

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infeciosas

Artigo de Revisão- Tratamento da infecção por *Clostridium difficile* recorrente- Alguma novidade para além da antibioterapia?

Maria Miguel Soares Resende

JUNHO'2018

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Doenças Infeciosas

Artigo de Revisão- Tratamento da infecção por *Clostridium difficile* recorrente- Alguma novidade para além da antibioterapia?

Maria Miguel Soares Resende

Orientado por:

Dra. Carla Mimoso Santos

JUNHO'2018

Resumo

Atualmente a infecção por *Clostridium difficile* representa a principal causa de diarreia associada aos cuidados de saúde. Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento da sua incidência aliado ao surgimento de episódios com gravidade crescente, cada vez mais refratários à terapêutica e mais recorrentes. A patogénese da infecção por *Clostridium difficile* envolve um conjunto de fatores, destacando-se a disbiose da microbiota intestinal, a colonização por uma estirpe toxicogénica e fatores de risco dependentes do hospedeiro. A antibioterapia continua a ser o tratamento de eleição, porém, tem um efeito paradoxal ao perpetuar a disbiose da microbiota intestinal e a alteração da composição de metabolitos fecais, sendo que a sua utilização é considerada o fator de risco maior para desenvolvimento desta infecção. Os inúmeros avanços nas investigações relativas à patogénese da infecção por *Clostridium difficile* e o aumento das taxas de recorrência têm motivado o desenvolvimento de novas estratégias para o tratamento de infeções recorrentes e sua prevenção. Atualmente, a única terapêutica não-antibiótica recomendada internacionalmente, é o transplante fecal. No entanto, a imunoterapia tem ganho cada vez mais destaque e, muito recentemente, foi aprovado pela *Food and Drug Administration* um anticorpo monoclonal anti-toxina B (Bezlotoxumab) para o uso na prevenção das infeções recorrentes. Este foi um passo importante na evolução do tratamento de infeções bacterianas uma vez que é o primeiro anticorpo aprovado para o efeito. As várias opções terapêuticas apresentadas parecem ser promissoras, mas é importante salientar a importância da realização de um maior número de estudos randomizados, controlados e em maior escala, de modo a que seja possível a obtenção de dados relativamente aos benefícios a longo prazo e custo-efetividade das várias alternativas, assim como o estabelecimento de orientações internacionais padronizadas para a sua utilização na prática clínica.

Palavras Chave: *Clostridium difficile*, microbiota intestinal, tratamento, transplante fecal, fatores de risco.

Este trabalho exprime a opinião do autor e não da Faculdade de Medicina de Lisboa.

Abstract

Clostridium difficile infection is the leading cause of healthcare-associated diarrhea. In recent years there has been an increase in its incidence and severity as well as it became more refractory to standard therapy and more likely to relapse. The pathogenesis of *Clostridium difficile* infection involves a number of factors, including intestinal microbiota dysbiosis, colonization by a toxicogenic strain, and host-dependent risk factors. We paradoxically continue to treat *Clostridium difficile* infection with antibiotics that can perpetuate the intestinal microbiota dysbiosis and the alteration of the composition of fecal metabolites. As a matter of fact, its use is considered the major risk factor for the development of this infection. Numerous advances in the investigation of the pathogenesis of *Clostridium difficile* infection and the increase in recurrence rates have motivated the development of new strategies for the treatment and prevention of recurrent infections. Currently, the only internationally recommended non-antibiotic therapy is fecal transplantation. However, immunotherapy has been highlighted and recently the Food and Drug Administration approved a monoclonal anti-toxin B antibody (Bezlotoxumab) for the prevention of recurrent infections. This was an important step in the evolution of the treatment of bacterial infections since it is the first antibody approved for this purpose. The therapeutic options presented appear to be promising but it is important to emphasize the importance of conducting a larger number of randomized, controlled, and larger-scale studies in order to obtain data on the long-term benefits and cost-effectiveness of the various alternatives as well as the establishment of standardized international guidelines for its use in clinical practice.

Key-words: *Clostridium difficile*, gut microbiota, treatment, fecal transplant, risk factors.

Índice

Resumo	i
Abstract	ii
Índice de ilustrações	iv
Lista de Abreviaturas	v
Introdução	1
Epidemiologia e Fatores de Risco	3
Patogenia da ICD e importância da microbiota intestinal	5
Tratamento da ICD Recorrente	8
Alternativas terapêuticas à antibioterapia para ICDR	16
Transplante fecal	16
Novidades na área da bacterioterapia fecal	19
Probióticos	21
Imunoterapia passiva: Anticorpos monoclonais anti-toxinas A e B	21
Imunoterapia passiva: outras alternativas	23
Imunoterapia ativa: vacinas	24
Compostos de ácidos biliares	26
Resinas permutadoras de íons (colestiramina e tolevamer)	27
Albumina	27
Conclusão	28
Agradecimentos	31
Bibliografia	32
Anexos	43
Anexo A	43
Anexo B	44
Anexo C	45
Anexo D	46
Anexo E	46

Índice de ilustrações

Tabela 1- Recomendações das *guidelines* da ACG, ESCMID e IDSA/SHEA para o tratamento de ICDR.....17

Tabela 2- Vacinas para prevenção da ICD em investigação em ensaios clínicos.27

Lista de Abreviaturas

ACG – *American College of Gastroenterology*

AGCC – Ácidos Gordos de Cadeia Curta

bid – duas vezes ao dia

CD – *Clostridium difficile*

ECDC – *European Centre for Disease Prevention and Control*

ESCMID– *European Society of Clinical Microbiology and Infection*

FDA – *Food and Drug Administration*

ICD – Infecção por *Clostridium difficile*

ICDR – Infecção por *Clostridium difficile* recorrente

IDSA/SHEA–*Infection Diseases Society of America/Society for Healthcare Epidemiology of America*

IgG – Imunoglobulina G

qid – quatro vezes ao dia

tid – três vezes ao dia

Introdução

Clostridium difficile (CD) é um bacilo Gram-positivo, anaeróbio obrigatório, formador de esporos e produtor de toxinas. É uma bactéria ubiqüitária, encontrada no solo, trato gastrointestinal de humanos e animais, além de poder estar presente em alguns produtos alimentares.^[1] Foi descoberto originalmente em 1935 como parte da flora intestinal de recém-nascidos saudáveis mas só na década de 1970 foi identificado como o principal agente responsável pela Colite Pseudomembranosa.^[2]

Atualmente a infecção por *Clostridium difficile* (ICD) representa a principal causa de diarreia em meio hospitalar^[1]. No entanto, o conceito de que CD é um agente nosocomial tem vindo a ser alterado devido ao crescente número de casos na comunidade, representando aproximadamente 1/3 do total dos casos.^[3]

A transmissão é feita por via fecal-oral e ocorre fundamentalmente através do contacto direto com superfícies e equipamento médico contaminado e do contacto indireto através dos profissionais de saúde e de outros pacientes infetados.^[4] Nos casos de ICD da comunidade alguns autores destacam a transmissão zoonótica, assim como outras possíveis fontes de contaminação como o solo, a água, vegetais e carnes.^[2, 5]

Este bacilo existe numa forma vegetativa, sensível a ambientes aeróbios e na forma de esporo, considerado como o grande veículo na transmissão da ICD. Estes esporos possuem particularidades como a persistência no ambiente por longos períodos, assim como a sobrevivência a ambientes adversos como meios ácidos, temperaturas elevadas e desinfetantes, que facilitam a sua propagação^[4]. O seu potencial de disseminação é acrescido ainda pela sua resistência a antibióticos o que permite que possam permanecer no trato gastrointestinal mesmo após tratamento e erradicação das formas vegetativas do bacilo, contribuindo para a recorrência da infecção.^[5, 6] Adicionalmente, indivíduos mesmo sendo portadores assintomáticos têm capacidade de excretar agentes patogénicos viáveis, servindo deste modo como reservatórios para a contaminação ambiental. Alguns estudos estimam que embora assintomáticos, cerca 2-3% dos adultos saudáveis na comunidade e aproximadamente 20%-40% dos doentes hospitalizados estão colonizados por esta bactéria.^[2, 5, 7]

Em condições normais, a microflora intestinal inibe o crescimento de CD. No entanto, quando o equilíbrio da flora intestinal é alterado, geram-se condições propícias à

sua germinação, colonização e segregação de toxinas, desencadeando a infecção por este agente.^[8, 9] O espectro clínico da ICD varia desde o estado de portador assintomático, à diarreia autolimitada, até à colite pseudomembranosa fulminante, megacólon tóxico ou mesmo a morte. Porém, o quadro clínico mais comum é caracterizado pela presença de diarreia.^[10, 11]

A terapêutica antibiótica é conhecida mundialmente como o maior fator de risco para a rutura desta barreira. No entanto, embora os antibióticos sejam os grandes *triggers* para a ICD, o tratamento para a maioria dos casos é baseado em terapêutica antibiótica oral. Os antibióticos de primeira linha são a vancomicina, metronidazol e a fidaxomicina. No entanto, o metronidazol não está indicado como terapêutica de 1ª linha, nas infecções mais graves, devido ao maior número de recidivas reportadas e a fidaxomicina tem aplicação restrita devido ao seu elevado custo.^[1, 4, 12, 13]

Nos últimos anos tem se assistido a uma mudança epidemiológica significativa, com um aumento da incidência, mortalidade e morbilidade associada à infecção por CD.^[14] Além de que foi observado o surgimento destas infecções com gravidade crescente, cada vez mais refratárias à terapêutica e mais recorrentes.^[4]

Após o termino da terapêutica antibacteriana de primeira linha num primeiro episódio, mais de 35 % dos pacientes têm infecções recorrentes^[15]. Os casos recorrentes são mais difíceis de tratar, são associados a um período de internamento superior, piores *outcomes* e custos acrescidos, além de uma probabilidade entre 50% a 60% de infecções recorrentes subsequentes.^[3, 15] A eficácia da terapêutica antibacteriana para uma primeira recorrência é aproximadamente 60 %, proporção que tende a diminuir em pacientes com recorrências múltiplas.^[16]

Nos últimos anos, as taxas alarmantes da ICD recorrente (ICDR), têm intrigado os investigadores, pelo que se tem verificado inúmeros avanços no campo da patogénese da ICD e no papel da microbiota intestinal, o que tem motivado, também, o estudo e desenvolvimento de novas estratégias para tratamento e prevenção desta infecção.

A procura de soluções para este problema da atualidade transporta-nos para uma nova Era onde assistimos a um novo paradigma: as infecções bacterianas já não são apenas passíveis de tratar com terapêutica antibacteriana. Que novas abordagens terapêuticas nos reservam?

Epidemiologia e Fatores de Risco

Por razões não completamente esclarecidas, o início do século XXI foi marcado pelo aumento da incidência e gravidade destas infeções assim como aumento das taxas de recorrência. [7, 17]

Esta mudança do padrão epidemiológico foi atribuída principalmente, por muitos investigadores, à emergência epidémica de uma estirpe hipervirulenta, associada a surtos de elevada morbidade e mortalidade, em vários pontos do mundo, designada ribotipo 027, toxinotipo III, B1 ou NAP1 (designações de acordo com o método de tipagem). Esta estirpe mutante é produtora de 16 e 23 vezes mais toxina A e B, respetivamente e, ainda, produz toxina binária^[2], cujo papel ainda não está bem definido mas parece estar associada a quadros de diarreia mais graves.^[10, 18, 19] Outro aspeto relevante é a sua resistência às fluoroquinolonas. Inicialmente, as quinolonas não eram uma causa comum da ICD. Porém, a sua utilização crescente conduziu à seleção de estirpes resistentes de CD. [7, 12, 17, 20]

Alguns autores destacam outros fatores que podem explicar este aumento como o desenvolvimento dos métodos de deteção, assim como o aumento de prescrição de antibióticos e de imunossupressores no contexto da quimioterapia e contaminação hospitalar crescente com esporos de CD, devido à maior frequência da doença. Este conjunto de fatores levaram a um aumento da probabilidade de infeção nos doentes mais vulneráveis, tendo sido a população idosa a mais afetada. [12]

Existem poucos estudos epidemiológicos em Portugal relativos a esta problemática. Os que foram realizados revelam um aumento da incidência, inclusive em instituições sociais e lares para a terceira idade. Um estudo realizado no Hospital Santa Maria entre o ano de 2000 e 2007, revelou uma incidência anual média de 3,71 casos por cada 10.000 internamentos. Ao longo dos anos verificou-se um aumento gradual da taxa de incidência e em 2007, os valores aumentaram para 15,41 casos por cada 10.000 internamentos.^[12]

Dados mais recentes da *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) revelam uma incidência anual média no ano 2011 e 2012 de 16,4 por 10.000 internamentos. No entanto, é importante destacar a grande heterogeneidade das taxas de incidência dos 14 países europeus envolvidos neste estudo.^[2]

Entre os vários estudos relativos a esta problemática, as taxas de mortalidade variam entre 0,8 a 21%.^[21]

Foi demonstrada que a exposição prévia a antibióticos é um forte fator de risco e o principal no desenvolvimento da ICD, sendo responsável por 15-25% dos casos de diarreia associada a antibioterapia.^[6, 12] Todas as classes de antibióticos, independentemente da via de administração podem estar associadas. No entanto, a clindamicina, as cefalosporinas, especialmente as de 3º geração^[22] e as fluoroquinolonas são as mais frequentemente envolvidas na patogénese.^[2]

Além da classe de antibiótico administrado, outros fatores como o número de antibióticos prescritos, a dose e duração do tratamento também foram identificados como fatores de risco.^[2] A ICD pode surgir durante ou após a antibioterapia, uma vez que as alterações da microbiota intestinal podem persistir por mais de 3 meses após o tratamento.^[2]

Para além da utilização de antibióticos nos últimos 3 meses, outros fatores de risco incluem idade superior a 65 anos, internamento hospitalar prolongado (superior a quatro semanas), existência de doença grave subjacente e comorbilidades, como a imunossupressão. Outros fatores que aumentam a predisposição são a manipulação/cirurgia gastrointestinal prévia, alimentação parentérica e a utilização de inibidores da bomba de prótons. A ICD pode, no entanto, ocorrer sem nenhum fator de risco conhecido.^[2, 5, 7, 12, 14, 20, 23]

Dos pacientes que adquirem ICD na comunidade mais de 30 % não apresentam fatores de risco típicos como o tratamento com antibióticos ou hospitalização recente^[2]. Nestes casos, a população afetada é mais jovem e estão associados a uma menor mortalidade e morbidade. No entanto, 40% dos pacientes requerem hospitalização e as taxas de recorrência são semelhantes quando comparadas com as infeções por CD nosocomiais.^[4]

Patogenia da ICD e importância da microbiota intestinal

A microbiota intestinal é um conjunto complexo de microrganismos que habitam no trato gastrointestinal, de cerca de 10^{14} células bacterianas, destacando-se o cólon como o local de maior densidade. Em indivíduos saudáveis, cerca de 90% da microbiota intestinal é constituída por dois filos dominantes: *Firmicutes* e *Bacteroidetes*.^[24, 25] Estas espécies estabelecem uma relação de simbiose com o hospedeiro e, para além dos mecanismos de proteção contra microrganismos patogénicos, também tem um papel importante no metabolismo energético, síntese de vitaminas essenciais e, ainda proporcionam uma variedade de vias metabólicas que contribuem para a regulação do sistema imunitário.^[9, 26, 27]

Estas bactérias fornecem vias alternativas para a digestão de certos componentes provenientes da dieta, que não são digeríveis pelo hospedeiro. Destes componentes, destacam-se os Hidratos de Carbono Complexos. Na sua presença, as bactérias presentes no colón expressam enzimas que lhes conferem a capacidade de fermentar estes macronutrientes e transformá-los em metabolitos, tais como os Ácidos Gordos de Cadeia Curta (AGCC). Os AGCC predominantes são: acetato (produzido pela maioria das bactérias anaeróbias intestinais), butirato (produzido principalmente por *Firmicutes*) e propionato (produção dominada por *Bacteroidetes*). O butirato é utilizado como substrato energético pelas células epiteliais cólicas, para além de que parece aumentar a função de barreira através da modulação da expressão de junções oclusivas e mucinas.^[28] Por outro lado, o acetato e o propionato são utilizados como substrato energético pelos tecidos periféricos para a lipogénese e gliconeogénese, respetivamente.^[29, 30]

A produção aumentada de ácidos gordos de cadeia curta, especialmente o butirato, associada à diminuição do pH intraluminal subsequente, tem sido correlacionada com a redução da produção de toxinas e inibição da colonização por CD.^[31]

Não existe uma definição padrão para uma microbiota intestinal saudável, contudo consideram-se algumas características importantes, nomeadamente a diversidade e equilíbrio das diferentes espécies e a capacidade de resistência à colonização. Um dos passos críticos no processo patogénico é precisamente a perda da resistência à colonização, que ocorre quando a microbiota está alterada.^[30, 32]

A disbiose da flora intestinal vai permitir que a ingestão dos microrganismos geralmente na forma de esporos resistentes, resulte na sua germinação na forma vegetativa, com posterior colonização do intestino e produção de duas toxinas, nomeadamente a A e B. Estas toxinas são produzidas pelas espécies toxicogénicas de CD e são consideradas o seu maior fator de virulência, sendo que alguns autores referem que a toxina B parece ser a mais importante para a patogénese da doença.^[33, 34] Estas possuem estruturas primárias semelhantes e estão organizadas em quatro domínios funcionais: (A) domínio catalítico N-terminal glicosiltransferase (C) domínio da cisteína protease importante na clivagem da toxina para que o domínio A seja libertado no citoplasma e possa exercer a sua função; (D) domínio hidrofóbico responsável pela translocação membranar; (B) domínio C-terminal responsável pela ligação da toxina aos recetores. Ambas as toxinas têm atividade glicosiltransferase causando a glicosilação, com a consequente inativação de GTPases como as proteínas Rho e Rac que são, por sua vez, muito importantes na manutenção da barreira epitelial e interações intercelulares, nomeadamente a formação do citoesqueleto, entre outras funções. A ação de ambas leva à degradação do citoesqueleto de actina, perda da função de barreira, citotoxicidade e morte celular. Além disso, as toxinas desencadeiam cascatas inflamatórias que contribuem para rutura da barreira epitelial intestinal, provocam um aumento da permeabilidade da membrana, exsudação, secreção de muco, diarreia e formação de pseudomembranas (figura 1- Anexo A).^[2, 35–37]

A infeção causada por uma estirpe de CD produtora de toxinas é fundamental, mas não é suficiente, uma vez que alguns indivíduos embora colonizados permanecem assintomáticos por tempo indefinido. Durante a infância e, principalmente nos primeiros dois anos de vida, a colonização por CD é comum e raramente está associada a ICD, apesar de poderem estar presentes níveis elevados de toxinas A e B.^[38, 39] O mecanismo exato de proteção contra CD nesta faixa etária ainda não é conhecido no entanto, alguns autores sugerem que poderá estar relacionado com a falta ou diminuição dos recetores de ligação das toxinas na superfície dos enterócitos, ainda não identificados, ou com a alteração dos locais de ligação nos mesmos. Outras teorias propostas têm evidenciado a ação protetora do leite materno.^[39] Este facto corrobora a hipótese de que a patogénese da ICD resulta de um conjunto de fatores, nomeadamente a disbiose da microbiota intestinal, a colonização por uma estirpe de CD toxicogénico e fatores de risco dependentes do hospedeiro.

As bactérias da flora intestinal conferem diretamente resistência à colonização através da competição pelos nutrientes, produção de substâncias antibacterianas e através do metabolismo dos ácidos biliares. [40]

Os ácidos biliares têm sido identificados como um dos fatores chave na modulação da microbiota intestinal e no controle do desenvolvimento e proliferação do CD. Na última década, investigações relativas ao papel dos ácidos biliares na patogênese e surgimento da ICD têm colocado a hipótese, de que de uma forma geral, os ácidos biliares primários, como o ácido cólico, promovem a germinação dos esporos de CD, enquanto que os ácidos biliares secundários, como o litocólico, inibem o crescimento das formas vegetativas. Existem algumas exceções de ácidos biliares que exercem o efeito oposto, como o ácido biliar primário chenodesoxicólico que é metabolizado em ácido litocólico e o ácido biliar secundário desoxicólico biotransformado a partir do ácido cólico. A metabolização dos ácidos biliares pela microbiota intestinal contribui desta forma para a resistência à colonização, sendo que existe um grupo restrito de bactérias que inclui a espécie *Clostridium scindens* que possui capacidade de converter ácidos biliares primários em secundários. [2, 41, 42]

Os fatores dependentes do hospedeiro de natureza imune são igualmente importantes na modulação da microbiota intestinal, nomeadamente a secreção de IgA específico, péptidos antimicrobianos produzidos pelas células epiteliais, como por exemplo, a libertação de defensinas pelas células de Paneth e secreção de mucinas[43]. Vários estudos referem que indivíduos com uma resposta imune humoral inadequada apresentam uma baixa produção de anticorpos antitoxinas, o que aumenta a suscetibilidade à infeção. Níveis baixos de anticorpos IgG antitoxinas A, num primeiro episódio de ICD, constituem um fator de risco para a doença recorrente. Por outro lado, os indivíduos portadores assintomáticos apresentam uma elevada produção destes anticorpos e têm um menor risco de desenvolver ICD comparativamente aos indivíduos não-portadores. [7, 13, 44–46]

Existem, também, fatores externos envolvidos na patogênese da ICD, sendo que uma área em investigação de particular interesse é o estudo dos efeitos dos antibióticos na composição e atividade metabólica da microbiota. Tem-se constatado que a microbiota de pacientes com ICD e com doença recorrente apresenta uma alteração da composição bacteriana com um aumento da população das Proteobactérias e uma diminuição das populações dominantes de *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, assim como um decréscimo na

diversidade global de espécies comparativamente a indivíduos saudáveis. ^[25, 47] Além de que, a disbiose observada nos casos de ICD está também associada a alterações na composição dos metabolitos fecais que favorecem a germinação e crescimento do CD, como o aumento de ácidos biliares primários e a diminuição de ácidos biliares secundários e de ácidos gordos de cadeia curta. ^[25, 48–50] Desta forma, alguns estudos da microbiota intestinal realizados em ratos sob antibioterapia têm sido realizados no sentido de correlacionar estas alterações com os efeitos da terapêutica antibacteriana. Os resultados obtidos foram sobreponíveis o que sugere que a administração de antibióticos conduz à alteração da microbiota intestinal, com perda da capacidade de resistência à colonização por CD e modificação da atividade metabólica. ^[9]

Outros metabolitos fecais que também parecem estar envolvidos na patogénese da ICD, são os ácidos siálicos, que representam um potencial substrato energético para CD. A administração de antibióticos pode aumentar os seus níveis no lúmen intestinal o que favorece o crescimento de CD. ^[51]

Estas alterações da flora intestinal descritas nos pacientes com ICD suportam a ideia de que a modulação desta pode ter algum potencial no tratamento e prevenção da sua recorrência.

Tratamento da ICD Recorrente

Um episódio de ICD é definido por um de dois critérios de diagnóstico. O primeiro consiste na presença de um conjunto de sinais e sintomas compatíveis com ICD e por uma confirmação microbiológica da existência de toxinas e presença de CD toxigénico nas fezes, na ausência de outra causa aparente. O segundo critério corresponde à identificação de uma colite pseudomembranosa por via endoscópica. ^[13]

Uma infeção recorrente é definida por um novo episódio de ICD até oito semanas após a resolução de sintomas de um episódio prévio, após tratamento apropriado, sendo que neste conceito estão incluídas recaídas e reinfeções ^[6, 13]. A eficácia da antibioterapia tem tendência a diminuir em recorrências múltiplas, o que implica que a escolha terapêutica varie consoante o número de recorrências e gravidade da infeção, que pode ser classificada em (1) ligeira a moderada, (2) grave, (3) grave e complicada, de acordo com critérios clínicos e laboratoriais. ^[13] (tabela 1- anexo B) É, ainda, importante destacar que a escolha terapêutica num episódio de infeção primário deve considerar a possível

presença de fatores preditivos de recorrência, como idade > 65 anos, manutenção da antibióterapia por outra causa infecciosa após o diagnóstico de ICD e/ou após o tratamento, comorbilidades associadas, uso de inibidores da bomba de prótons, história prévia de ICD e episódio de ICD inicial grave.^[13] (tabela 2- Anexo C)

Três *guidelines* consideradas como linhas orientadoras principais, a *American College of Gastroenterology* (ACG), a *European Society of Clinical Microbiology and Infection* (ESCMID) e *Infection Diseases Society of America* (IDSA)/*Society for Healthcare Epidemiology of America* (SHEA) foram atualizadas em 2013, 2014 e 2017, respectivamente. Na orientação do tratamento, ambas se baseiam na gravidade da infecção, no entanto, as recomendações diferem entre si, o que torna o tratamento da ICDR um verdadeiro desafio.

Num primeiro episódio de ICDR, segundo as recomendações da ACG, poderá ser utilizado o mesmo antibiótico administrado no episódio primário, metronidazol 500 mg *per os*, três vezes por dia, durante 10 dias, ou vancomicina 125 mg *per os*, quatro vezes por dia, durante 10 dias. No entanto, para os casos de doença grave, apenas a vancomicina deverá ser utilizada. A superioridade da vancomicina foi demonstrada, sendo que uma das evidências que corroboram a relação de inferioridade do metronidazol em relação à vancomicina, provém de dois ensaios clínicos de fase III que compararam estes dois fármacos no tratamento de um primeiro episódio de ICD e que revelaram que os pacientes medicados com vancomicina tiveram taxas de resposta clínica superiores (resolução do quadro de diarreia e ausência de desconforto abdominal grave por mais de dois dias consecutivos) comparativamente ao grupo no qual foi administrado metronidazol (81,1% e 72,7 %, respectivamente). No entanto, de acordo com estas *guidelines*, nos casos de doença ligeira a moderada, continua a ser recomendado o uso do metronidazol devido aos menores custos associados. Além de que a incidência de uma segunda recorrência após tratamento adequado de um primeiro episódio recorrente é semelhante tanto na administração de metronidazol como no tratamento com vancomicina.^[10, 13, 52]

A abordagem de uma segunda recorrência consiste na realização de vancomicina, no esquema dos 10 dias, seguida de vancomicina em pulsos, que consiste em administrações de 125 mg de três em três dias durante 30 dias. Apesar desta recomendação presente nas *guidelines* e da frequência com que se recorre a esta estratégia de tratamento na prática clínica, existem poucos estudos relativamente aos esquemas de vancomicina em pulsos e seus *outcomes*. No entanto, alguns demonstram que a

administração por pulsos de vancomicina está associada a uma maior eficácia e menor recorrência comparativamente à administração de 10 dias. O tempo superior entre as diferentes administrações permite que ocorra uma germinação superior de esporos e consequentemente a eliminação das formas vegetativas resultantes, pelo que se considera a hipótese que este esquema permite uma eliminação mais exaustiva dos esporos.^[53] O metronidazol não deve ser administrado quando ocorre mais do que uma recorrência, uma vez que o seu uso continuado tem potenciais efeitos adversos, nomeadamente neuropatia periférica, crises convulsivas e interações medicamentosas graves.^[19]

A partir de uma terceira recorrência, após a realização de vancomicina em pulsos, deve considerar-se a possibilidade de um transplante fecal.^[1]

De acordo com as *guidelines* da ESCMID, perante uma primeira recorrência de gravidade ligeira a moderada, a vancomicina 125 mg *per os*, quatro vezes por dia, durante 10 dias e a fidaxomicina 200 mg, duas vezes por dia, durante 10 dias, são as duas alternativas recomendadas. Nos casos de ICDR mais graves a vancomicina permanece a escolha de eleição.

Para múltiplas recorrências estão recomendadas a fidaxomicina no regime terapêutico supracitado, a vancomicina administrada em pulsos assim como o regime de *tapering*, em que após a administração inicial de 125 mg de vancomicina, quatro vezes ao dia, durante 10 dias, reduzem-se gradualmente as doses para 125 mg por dia. Parte das evidências que suportam estas recomendações resultam de um estudo que reportou taxas de recorrência de 31 % e 14,3% nos pacientes que realizaram tratamento com vancomicina em regime *tapering* e em pulsos, respetivamente. No grupo dos pacientes que realizaram tratamento *standard* de 10 dias com vancomicina a taxa de recorrência foi superior, o que favorece a utilização dos outros regimes disponíveis e que parecem ser mais eficazes. Nesse mesmo estudo também foi comparada a eficácia da utilização de várias doses de vancomicina (dose baixa: 500 mg/ dia; dose média: 1g/ dia, dose alta: 2g/dia). Os resultados obtidos revelam que pacientes tratados com doses altas de vancomicina têm uma tendência para taxas de recorrência inferiores comparativamente aqueles nos quais é administrada a dose mais baixa, que corresponde à dose *standard* de 125 mg, quatro vezes por dia (42,9% e 54,2%, respetivamente). No grupo que recebeu tratamento com as doses médias de vancomicina as taxas de recorrência foram de 71,4 %, o que nos leva a deduzir que esta dosagem é desvantajosa. Embora com nível de evidência inferior comparativamente às estratégias supracitadas, as *guidelines* da

ESCMID incluem nas recomendações para o primeiro episódio recorrente ou recorrências múltiplas, a utilização de vancomicina 500 mg, quatro vezes por dia, durante 10 dias.^[13, 54]

O transplante fecal após antibioterapia oral (vancomicina 500 mg, quatro vezes por dia, quatro dias) também está recomendado, segundo as *guidelines* da ESCMID, para estes casos com múltiplas recorrências.^[13] No entanto, só esporadicamente foi relatada a sua realização em Portugal.^[55]

A fidaxomicina é um antibiótico da classe dos macrólidos, com ação bactericida que ocorre por inibição da síntese de RNA, além de que apresenta um espectro de ação reduzido, o que se traduz num menor impacto sobre a microbiota intestinal. Foi demonstrado ser o único fármaco com capacidade de inibir a formação de esporos, ao bloquear a síntese de mRNAs bacterianos associados a este processo. Por outro lado, também inibe a produção de toxinas.^[56, 57]

Um estudo comparativo entre o uso de fidaxomicina e vancomicina, no tratamento de um primeiro episódio de recorrência, reportou que uma segunda recorrência da infeção foi menos comum após o tratamento com fidaxomicina comparativamente com a administração do esquema *standard* de vancomicina, sendo que no primeiro grupo as taxas de recorrências foram de 19,7 % e no segundo de 35,5%.^[58] Neste estudo, a resposta clínica obtida até ao fim do tratamento foi muito semelhante entre os dois fármacos (taxas de cura > 90%). Estudos mais recentes corroboram estes dados mas evidenciam a maior taxa de cura sustentada obtida no grupo medicado com fidaxomicina, o que se torna vantajoso, uma vez que o tempo que a infeção demora a recorrer é significativamente superior neste grupo.^[21] No entanto, a sua utilização em recorrências múltiplas tem evidência limitada, pelo que requer estudos randomizados e controlados que sustentem a sua administração nestes casos. A fidaxomicina não foi associada a taxas de recorrência inferiores nos estudos em que a estirpe ribotipo 027 estava envolvida.^[59] Recentemente foi demonstrada a superioridade da administração de fidaxomicina em pulsos em comparação com o regime *standard* de vancomicina (125 mg, quatro vezes por dia, durante 10 dias), em pacientes com idade ≥ 60 anos, recrutados de 86 hospitais europeus. O tratamento com fidaxomicina em pulsos consistiu na administração de 200 mg per os, duas vezes por dia, do primeiro ao quinto dia e depois, uma vez por dia, em dias alternados, do sétimo até ao vigésimo quinto dia de tratamento. Do total de pacientes que realizaram tratamento com fidaxomicina, 70 % alcançaram uma taxa de cura sustentada

30 dias após o tratamento, enquanto que o grupo no qual foi administrada vancomicina obteve uma taxa inferior de 59 %. A taxa de recorrência obtida, 30 dias após o tratamento, com a administração de fidaxomicina em pulsos foi, não só inferior à obtida no grupo que realizou o esquema de vancomicina (4% e 17%, respetivamente) como também foi a taxa de recorrência mais baixa reportada, até à data, em ensaios clínicos randomizados e controlados relativos ao tratamento com antibióticos na ICD. No entanto, este estudo não compara a administração de fidaxomicina em pulsos com o regime *standard* deste fármaco recomendado nas *guidelines* atuais (200 mg, duas vezes por dia, durante 10 dias) pelo que seria interessante a realização de um estudo comparativo das duas opções terapêuticas, de forma a tentar compreender se o esquema em pulsos tem ou não mais vantagens relativamente ao que está recomendado.^[60]

A fidaxomicina é uma terapêutica com custos acrescidos, no entanto tem demonstrado ser uma alternativa custo-efectiva à vancomicina, motivo pelo qual é recomendada pelas novas *guidelines* da IDSA/SHEA, como tratamento de primeira linha para episódio inicial da ICD, primeiro episódio recorrente e múltiplas recorrências. Este fármaco está inclusivamente indicado para casos de ICD grave que até então eram tratados somente com vancomicina.^[21, 61, 62] (tabela 3-Anexo D)

As *guidelines* da IDSA/SHEA foram atualizadas muito recentemente e apresentam várias mudanças no tratamento da ICD, sendo que algumas das recomendações vão mesmo contra alguns dados que foram apresentados anteriormente e que constam nas outras *guidelines* já abordadas. Nesta nova versão de 2017, uma das alterações mais evidentes, além da supracitada relativa à utilização de fidaxomicina, é a exclusão do metronizadol como primeira linha terapêutica, quer para o tratamento de um episódio primário quer para a ICD recorrente. Como já foi referido anteriormente, o metronidazol demonstrou ser inferior à vancomicina, além de que tem uma fraca penetrabilidade no lúmen intestinal e as suas concentrações baixam drasticamente quando ocorre resolução da inflamação da mucosa intestinal. Por outro lado, tem sido reportado um aumento do número de isolamentos de CD com reduzida suscetibilidade ao metronidazol, pelo que em conjunto todas estas evidências afastam este fármaco do tratamento de primeira linha da ICD. Desta forma, segundo as novas atualizações das *guidelines* da IDSA/SHEA, para um primeiro episódio de recorrência, poderá ser utilizado o esquema de vancomicina 125 mg per os, quatro vezes por dia, durante 10 dias (particularmente se o metronidazol foi utilizado num episódio inicial), ou fidaxomicina

200 mg, quatro vezes por dia, durante 10 dias (se a vancomicina for utilizada para o tratamento do episódio inicial), ou uma nova alternativa que consiste num regime prolongado combinado em *tapering* e em pulsos de vancomicina, em que após a administração de vancomicina 125 mg, quatro vezes por dia, durante 10 dias, reduzem-se as doses para 125 mg, duas vezes ao dia, durante uma semana, na seguinte, reduzem ainda mais a dose para 125 mg por dia e depois administra-se cada 2 ou 3 dias por 2 a 8 semanas. Esta última estratégia é utilizada principalmente se for realizado um tratamento *standard* com vancomicina por 10 dias para um primeiro episódio.^[62] Um estudo observacional não randomizado retrospectivo recente investigou a eficácia do regime combinado em *tapering* e em pulsos, num grupo de 100 pacientes com ICDR por um período de 5 anos. Esta alternativa demonstrou ser efetiva no tratamento da ICDR com taxas de cura global de 74 %.^[53]

Nas recorrências subsequentes, as *guidelines* da IDSA/SHEA recomendam a administração de vancomicina no regime prolongado em *tapering* e em pulsos de vancomicina supracitado, ou fidaxomicina 200 mg, duas vezes por dia, durante 10 dias, ou a administração de vancomicina no esquema *standard* durante 10 dias, seguida de rifaximina 400 mg, três vezes por dia, durante 20 dias. A introdução da rifaximina é outra novidade das novas *guidelines*. Num estudo randomizado e controlado por placebo foi administrada rifaximina 400 mg, três vezes por dia, durante 20 dias, num grupo de pacientes, logo após terem terminado o tratamento *standard* com vancomicina, sendo que os resultados obtidos revelam que a taxa de recorrência no grupo medicado com rifaximina foi inferior ao grupo placebo (15 % e 31%, respetivamente), o que encoraja a sua utilização em associação com a vancomicina nos casos de pacientes com mais do que um episódio recorrente.^[63] Por fim, também foi adicionado, o transplante fecal, como uma das alternativas nestes casos com múltiplas recorrências e, embora não existam dados que suportem qual o número ideal de episódios recorrentes a partir do qual se deve tentar esta opção terapêutica, as novas recomendações sugerem a sua utilização após a tentativa de cura de 2 episódios recorrentes com antibióterapia.^[62] Um ensaio clínico randomizado e controlado comparou a eficácia de um transplante fecal administrado via enema após tratamento com vancomicina oral durante 14 dias com o regime combinado de vancomicina em *tapering* e em pulsos com 6 semanas de duração, em pacientes com ICDR. Nos pacientes que receberam o transplante fecal, a taxa de recorrência foi de 56,2 % e no grupo medicado com vancomicina em regime combinado em *tapering* e em pulsos

a taxa foi de 41,7 %. Devido a não se terem obtido resultados significativamente diferentes entre os dois grupos o estudo terminou mais cedo do que o previsto. ^[64]

Alguns pacientes necessitam de realizar outro tipo de antibioterapia durante ou logo após o tratamento da ICD, pelo que estes têm um risco elevado de recorrência da infeção. Na prática clínica, alguns profissionais optam por prolongar a duração do tratamento da ICD, até os restantes regimes de antibioterapia terem sido interrompidos. No entanto, o benefício resultante desta estratégia para diminuir as recorrências não é conhecido e inclusive foi realizado um estudo de revisão retrospectivo, de pacientes que realizaram o tratamento da ICD com outra antibioterapia concomitante, que sugere não existir vantagens no prolongamento da antibioterapia para o tratamento da ICD, além dos 10 a 14 dias protocolados. Até à data, não existem estudos randomizados e prospetivos relativos à profilaxia secundária da ICD que suportem a sua recomendação. No entanto, as *guidelines* da IDSA/SHEA referem que se se optar por prolongar a antibioterapia para a ICD, é sugerida a administração de doses baixas de vancomicina ou fidaxomicina (125 mg e 200 mg, respetivamente, uma vez por dia) enquanto é administrada antibioterapia sistémica. ^[62]

Atualmente existem outros antibióticos a serem investigados que parecem ser promissores, nomeadamente a cadazolida, surotomicina, tigeciclina e ridinilazole. (tabela 4- Anexo E). ^[65]

Tabela 1- Recomendações das *Guidelines* da ACG, ESCMID e IDSA/SHEA para o tratamento de ICDR.

Guidelines	Primeira recorrência	Segunda recorrência	Múltiplas recorrências(≥3)
ACG	Metronidazol (500 mg PO tid, 10 dias) ou Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias)	Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias seguido de vancomicina em pulsos- 125 mg PO, de 3 em 3 dias, 30 dias)	Vancomicina (em pulsos) + Transplante fecal
ESCMID	Primeira recorrência	Múltiplas recorrências (≥2)	
	Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias) ou Fidaxomicina (200 mg PO bid, 10 dias)	Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias seguido de: - Vancomicina em pulsos - 125 mg a 500 mg por dia PO, cada 2-3 dias, por pelo menos 3 semanas ou - Vancomicina em regime taper - redução progressiva até 125 mg por dia. ou Fidaxomicina (200 mg PO bid, 10 dias)	+ Transplante fecal (Se ICD não respondia à antibioterapia, vancomicina 500 mg, qid, 4 dias + lavagem do intestino + infusão nasoduodenal de fezes de dadores)
IDSA/SHEA	Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias - se o metronidazol foi utilizado no episódio inicial) ou Fidaxomicina (200 mg PO qid, 10 dias- se a vancomicina for utilizada no episódio inicial) ou Regime prolongado combinado em tapering e em pulsos de vancomicina (125 mg PO qid, 10-14 dias, na semana seguinte bid, depois uma vez por dia por mais uma semana e, de seguida, cada 2 ou 3 dias por 2 a 8 semanas)	Regime combinado em tapering e em pulsos de vancomicina ou Vancomicina (125 mg PO qid, 10 dias) + Rifaximina (400 mg PO, tid, 20 dias) ou Fidaxomicina (200 mg PO, bid, 10 dias) ou Transplante fecal (> 2 episódios recorrentes)	
ACG – American College of Gastroenterology, bid – duas vezes ao dia, ESCMID - European Society of Clinical Microbiology and Infection, IDSA/SHEA–Infection Diseases Society of America/Society for Healthcare Epidemiology of America PO – per os, qid – quatro vezes ao dia; tid – três vezes ao dia			

Adaptado de: Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, *et al.* Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *American Journal of Gastroenterology*. 2013;108:478–98, Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, Allerberger F, Bouza E, Coia JE, *et al.* European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014;20:1–26 e McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, *et al.* Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;66:987-94.

Alternativas terapêuticas à antibioterapia para ICDR

Transplante fecal

Atualmente a única terapêutica não-antibiótica para o tratamento de ICDR, recomendada internacionalmente, é o transplante fecal. A antibioterapia permanece o tratamento de eleição.^[1, 13] No entanto, tem um efeito paradoxal ao perpetuar a disbiose da microbiota intestinal. Além de que, a recorrência das infeções é tipicamente causada pelo crescimento das formas vegetativas através da germinação de esporos residuais resistentes à antibioterapia.^[40]

A análise comparativa das fezes dos dadores com as dos pacientes pré e pós transplante permitiu concluir que o transplante fecal normaliza a composição bacteriana, verificando-se um aumento da diversidade e da população de *Bacteroidetes* e *Firmicutes* e diminuição da população de Proteobacterias, permitindo assim o restabelecimento de uma microbiota intestinal saudável. Por outro lado, também se verifica um aumento dos ácidos biliares secundários, o que favorece a resistência à colonização.^[48–50, 66]

Na atualidade, o transplante fecal tem ganho cada vez mais importância, sendo considerado uma opção segura e eficaz para casos de ICDR. No entanto, embora seja um tema atual não é uma alternativa terapêutica nova. Em 1958, foi documentada a realização do primeiro transplante fecal para o tratamento de colite pseudomembranosa. Neste estudo foram descritos quatro casos de pacientes com doença refratária, nos quais foram administrados enemas fecais como tratamento adjuvante da antibioterapia, sendo que em apenas algumas horas, todos obtiveram uma resposta clínica completa.^[1]

Em 2012, o primeiro estudo a incluir vários centros e um *follow-up* a longo prazo (média de 17 meses), com 77 pacientes envolvidos com ICDR, reportou uma taxa de cura primária (resolução sintomática sem episódios de recorrência no prazo de 90 dias após o transplante) de 91% e uma taxa de cura secundária (resolução sintomática após curso adicional de vancomicina com ou sem novo transplante) de 98 %.^[67] No ano seguinte, foi publicado um estudo que demonstrou uma maior eficácia da administração de vancomicina seguida de transplante fecal comparativamente ao uso de vancomicina isolado nos casos de ICDR. O grupo que recebeu o transplante fecal obteve uma taxa de cura de 81 % após a primeira infusão de fezes por sonda nasogástrica, que alcançou posteriormente os 94 %, com nova infusão de fezes nos pacientes que não obtiveram

respostas satisfatórias inicialmente. No grupo onde foi administrada vancomicina isolada e vancomicina, com lavagem intestinal, as taxas de cura foram de 31% e 23%, respetivamente. ^[16] Outro estudo comparativo das duas alternativas, realizado posteriormente, obteve resultados semelhantes, com taxas de cura global de 90%, sendo que a via de administração escolhida para realização do transplante fecal foi a colonoscopia. ^[68]

Existem várias vias de administração que foram surgindo sequencialmente, nomeadamente enemas fecais, a infusão de fezes via sonda nasogástrica, via endoscopia, colonoscopia e cápsulas orais. Atualmente, ainda não existe uma opinião consensual relativa à via de administração mais eficaz. Alguns estudos indicam que a realização de transplante fecal através do trato gastrointestinal inferior parece ter melhores resultados ^[69–74] e que, em parte, poderá ser devido à maior quantidade de fezes transplantadas nestas técnicas, pelo que alguns autores colocam a hipótese de poder haver uma resposta dose-dependente. ^[75] No entanto, um estudo em 2014 demonstrou que a infusão de fezes via sonda nasogástrica é igualmente eficaz comparativamente à realização de colonoscopia ^[76].

O método mais recente que recorre ao uso de cápsulas orais também apresenta resultados promissores. ^[77, 78] Em 2017, a administração de cápsulas orais com preparações de fezes congeladas foi comparada à utilização de colonoscopia. Em ambos os grupos, 12 semanas após um único transplante, a taxa de cura foi 96,2 %. Estes dados demonstram que a utilização de cápsulas orais é eficaz no tratamento da ICDR e que não existe uma relação de inferioridade em comparação com a realização de colonoscopia. No grupo onde foram administradas cápsulas orais, os efeitos adversos *minor* (náuseas, vómitos, dor abdominal e febre) foram menos frequentes (5,4%) comparativamente ao grupo que realizou colonoscopia (12,5%).

É importante realçar a importância da situação clínica de cada paciente na escolha da técnica a realizar, sendo que nos pacientes que não estão aptos para serem submetidos a técnicas invasivas, este método mais recente poderá vir a ser uma abordagem possível, além de que poderá vir a ser um método mais atrativo para os pacientes. ^[75]

Outros aspetos subjacentes ao transplante relacionados com os potenciais dadores e modo de preparação das fezes também têm sido alvo de estudo. Não foi encontrada uma diferença significativa de taxas de cura e recorrência entre pacientes que receberam fezes

de dadores saudáveis desconhecidos e de dadores relacionados.^[74] Assim como, também não foram encontradas diferenças significativas da eficácia de preparações de fezes frescas relativamente a preparações congeladas. No entanto, alguns autores realçam, entre outras vantagens, a importância de um maior período de análise das fezes na diminuição do risco de transmissão de agentes infecciosos, permitido nas preparações congeladas, ao contrário das frescas que possuem viabilidade limitada de aproximadamente 6 h.^[77]

Os efeitos adversos a curto prazo mais frequentemente reportados após o transplante são diarreia, distensão e dor abdominal. Na maioria dos casos estes sintomas são leves a moderados e auto-limitados. Na generalidade dos estudos publicados, os efeitos adversos são escassos e não existem casos reportados de complicações graves de causa infecciosa. No entanto, é importante alertar para a existência de um risco de transmissão de agentes infecciosos que não são detetados no rastreamento das fezes.^[74] Por outro lado, alguns pacientes relataram a exacerbação de doenças pré-existentes, como por exemplo, sinusites alérgicas e artrites, enquanto outros desenvolveram novas doenças após o transplante fecal, na sua maioria autoimunes ou reumatológicas, como a neuropatia periférica, síndrome de *Sjogren*, púrpura trombocitopénica idiopática e artrite reumatóide. Porém, são necessários mais estudos com seguimento a longo-prazo dos pacientes, para que se possa perceber se existe efetivamente uma relação entre o transplante fecal e estas doenças.^[67]

Embora, inicialmente, os pacientes imunodeprimidos tenham sido excluídos dos estudos relativos à transplantação fecal, por algum receio dos investigadores, dados mais atuais referentes a esta população específica sugerem que o procedimento parece ser seguro e eficaz, com taxas de cura sobreponíveis aos estudos prévios. No entanto, após o procedimento, cerca de 14 % dos pacientes com doença inflamatória intestinal sofreram exacerbações da doença, embora não tenha sido possível determinar se foram devidas ao procedimento, à própria infeção por CD ou à progressão natural da doença.^[23] Algumas mortes reportadas relacionadas com o procedimento foram devidas a pneumonias por aspiração após a sedação para a realização dos métodos endoscópicos. Outro caso reportado, foi a morte de um paciente com ICD grave que evoluiu para megacólon tóxico e choque séptico após o procedimento.^[32] O transplante fecal para os casos de ICD grave e refratário à antibioterapia ainda não está explicitamente incluído nas recomendações das *guidelines* pelo que é necessária maior evidência relativa à segurança e eficácia do

procedimento nestes casos, embora existam alguns estudos recentes que apresentam resultados promissores.^[73]

As taxas de recorrência global após transplante fecal são de 5,5 %. Os pacientes mais idosos (>65 anos) têm maiores taxas de recorrência precoce, o que leva a taxas de cura inferiores comparativamente aos mais jovens.^[74]

As crescentes investigações foram em grande parte devidas à emergência da estirpe BI/NAP1/027, que aumentou a necessidade de utilização desta terapêutica de resgate devido ao aumento dos casos de ICDR. Além de que, os resultados promissores obtidos relativos à eficácia desta alternativa terapêutica fomentaram, também, um maior interesse nesta área. Atualmente, o foco das novas investigações é a procura da estandardização dos procedimentos, assegurando a segurança e sustentabilidade dos mesmos e possíveis novas indicações.^[76]

Novidades na área da bacterioterapia fecal

No contexto da falta de estandardização dos produtos, vias de administração e dose de fezes a administrar nas técnicas de transplantação fecal, além do potencial de transmissão de agentes infecciosos emergentes, a bacterioterapia voltou a ser alvo de investigação com o objetivo de obtenção de produtos mais controlados, reproduzíveis e mais seguros.

Recentemente foi desenvolvido um enema (RBX2660) preparado a partir de fezes de doadores saudáveis previamente selecionados após terem sido triados em várias etapas. O objetivo deste estudo era testar a eficácia na prevenção da ICD e perfil de segurança de um produto mais padronizado, controlado e pronto a utilizar. O enema é armazenado a uma temperatura de $\leq -80^{\circ}\text{C}$ e depois é descongelado antes da sua administração, sendo que pode permanecer 2 dias em ar ambiente antes do procedimento ser realizado.^[79] O ensaio clínico de fase II, duplo-cego, randomizado e controlado, demonstrou superioridade após uma dose única de RBX2660 (administrada após esquema prévio de 10-14 dias de vancomicina *per os*) em comparação com o grupo placebo. A taxa global de eficácia nos pacientes tratados com RBX2660 foi de 88.8 %. A administração do enema foi bem tolerada e segura, porém serão necessários mais avaliações que confirmem a sua eficácia e segurança a longo prazo.^[80]

Em 2013, foi publicado o estudo “*RePOOPulating the Gut*”, que desenvolveu um produto sintético com uma mistura de 33 bactérias diferentes da flora intestinal, que foram isoladas após cultura de uma amostra fecal de um dador saudável e posteriormente selecionadas com base em testes de sensibilidade a antibióticos. As preparações foram administradas através de colonoscopia a dois pacientes com ICDR, tendo ocorrido resolução dos sintomas em ambos, que não voltaram a surgir ao longo dos seis meses de seguimento, mesmo com necessidade de antibioterapia por outras causas infecciosas. Esta técnica permite ter um controlo sobre a composição do produto a administrar, é reprodutível, além de que permite eliminar agentes patogénicos como vírus, fungos e *Archaea* da mistura.^[81]

Um outro ensaio clínico em fase II, publicado posteriormente, apresentou uma preparação de esporos fracionados de *Firmicutes* (SER-109). Estes foram obtidos através de fezes de dadores saudáveis, posteriormente tratados com etanol para reduzir o risco de contaminação através de agentes infecciosos, encapsulados, de forma a serem administrados pela via oral e armazenados a -80°C. Dos 30 pacientes envolvidos, 26 alcançaram o primeiro objetivo com prevenção das recorrências nas primeiras 8 semanas de seguimento, destes, 23 passaram à segunda fase de seguimento do estudo até as 24 semanas, com manutenção de resposta clínica em 87% dos pacientes. O estudo foi desenvolvido baseado na hipótese de que microrganismos formadores de esporos poderiam competir com CD pelos nutrientes e/ou ácidos biliares necessários para sua germinação.^[82]

Seguindo um raciocínio semelhante, outro ensaio clínico em fase II, introduziu uma preparação de esporos de uma estirpe de CD não toxicogénica (CDNT-M3), administrada na forma líquida pela via oral. Neste estudo foi avaliada a eficácia e segurança desta preparação para a prevenção da recorrência do CD em pacientes com um único episódio de ICD ou com uma primeira recorrência, com resposta clínica após antibioterapia. A colonização com CDNT-M3 foi correlacionada com proteção contra CD. Nos doentes colonizados, as taxas de recorrência foram de 2%. No entanto, apenas 69% dos pacientes ficaram colonizados, e os que não ficaram, obtiveram taxas de recorrência semelhantes ao grupo controlo (31%). Além de que após 22 semanas de seguimento, CDNT-M3 não foi detetado em nenhum dos pacientes envolvidos.^[83] Ao contrário deste, no ensaio clínico relativo ao produto SER-109, a proliferação das

bactérias administradas foi rápida, dose-independente e manteve-se ao longo das 24 semanas de seguimento.

O desenvolvimento destas novas soluções requer investigações em maior número e escala. No futuro, a administração de uma combinação específica de bactérias previamente selecionadas, através de cápsulas orais congeladas, poderá vir a ser um tratamento mais apelativo para estes pacientes. [73]

Probióticos

Os probióticos são definidos internacionalmente por um conjunto de bactérias vivas e não patogénicas capazes de colonizar o intestino e conferir benefícios para o hospedeiro, se administradas em doses adequadas. Os microrganismos mais frequentemente utilizados são os *Lactobacilos*, *Bifidobactérias* e *Saccharomyces boulardi*. [84] Os mecanismos de ação através dos quais os probióticos exercem um efeito protetor continuam a ser alvo de investigação. Uma das hipóteses propostas referente aos mecanismos de ação de *Saccharomyces boulardi*, defende a possível secreção de proteases que degradam as toxinas de CD e inibição da sua ligação aos recetores respetivos. [85–87]

O papel dos probióticos para a prevenção e tratamento da ICD é um tema muito controverso e muitos têm vindo a ser testados em paciente com ICDR, como tratamento adjuvante da antibioterapia. Dos estudos realizados, destaca-se a utilização de *Saccharomyces boulardi*, que demonstrou alguma eficácia terapêutica. [87] No entanto, globalmente a análise dos dados obtidos permite concluir que não existem fortes evidências que suportem a sua utilização para o tratamento da ICDR, pelo que não são recomendados pela ACG, ESCMID e IDSA/SHEA. [1, 73] Além de que, existem casos reportados de fungemia e bacteriemia após a administração de probióticos em pacientes idosos, imunodeprimidos ou em estado crítico, que alertam para os potenciais riscos da sua utilização, especialmente nestes grupos mais vulneráveis. [88] Por outro lado, é importante destacar que não existe um bom controlo de qualidade de muitos destes produtos. [1, 86]

Imunoterapia passiva: Anticorpos monoclonais anti-toxinas A e B

Recentemente surgiram dois anticorpos humanos monoclonais IgG1, nomeadamente o actoxumab e o bezlotoxumab, desenvolvidos para se ligarem às toxinas

A e B respetivamente, neutralizando-as. Estes anticorpos atuam diretamente em diferentes subdomínios da região C-terminal das toxinas, impedindo a ligação destas às células do hospedeiro.

Numa fase inicial foram realizados dois ensaios clínicos randomizados de fase II e controlados por placebo em pacientes com primeiro episódio ou com ICDR, a realizar antibioterapia. No primeiro ensaio clínico que comparou o actoxumab com o grupo placebo os resultados obtidos não foram satisfatórios uma vez que as taxas de recorrência, ao fim de 8 semanas de seguimento, foram idênticas em ambos os grupos (17% e 18%, respetivamente).^[89] Posteriormente, foi realizado um estudo comparativo entre a combinação actoxumab-bezlotoxumab e o grupo placebo, que demonstrou uma redução significativa das taxas de recorrências, nas 12 semanas de seguimento, no grupo dos pacientes tratados com os anticorpos monoclonais (7% e 25% respetivamente).^[90]

Seguiram-se dois ensaios clínicos randomizados, fase III, duplamente cegos controlados por placebo (MODIFY I e MODIFY II) com o objetivo primário de avaliar a eficácia dos anticorpos monoclonais na redução das taxas de recorrências, ao fim de 12 semanas de seguimento, em pacientes com episódio inicial ou recorrente de ICD e a realizar antibioterapia oral com metronidazol, fidaxomicina ou vancomicina por 10 a 14 dias. Para o efeito foi feita uma análise comparativa entre o grupo placebo e outros três grupos diferentes: o de pacientes no qual foi administrado actoxumab (MODIFY I apenas), outro o bezlotoxumab e um terceiro a realizar uma combinação destes últimos. De acordo com os resultados de ambos os ensaios clínicos as taxas de recorrência foram significativamente inferiores nos pacientes que realizaram o tratamento bezlotoxumab comparativamente ao grupo placebo. (MODIFY I: 17% e 28%; MODIFY II: 16% e 26%, respetivamente). Os autores também referem que o tratamento com a combinação do actoxumab e bezlotoxumab não demonstrou ter maior eficácia comparativamente ao bezlotoxumab isolado. (MODIFY I: taxas de recorrência de 16 % no grupo actoxumab e bezlotoxumab e 28% no grupo placebo; MODIFY II: 15% e 26%, respetivamente) Por outro lado, o tratamento com actoxumab isolado não foi eficaz na redução das taxas de recorrência comparativamente aos restantes, pelo que o grupo em questão não continuou a fazer parte da investigação. As taxas de efeitos adversos foram semelhantes entres os diferentes grupos e os mais frequentes foram diarreia e náuseas, na sua maioria reportados como episódios de intensidade ligeira e auto-limitados. A taxa de mortalidade no grupo medicado com bezlotoxumab (7,1%), ao fim de 12 semanas, foi também muito semelhante aos restantes grupos, com exceção do grupo do actoxumab que apresentou

uma taxa ligeiramente superior. As causas de morte, na sua maioria, foram relacionadas com episódios de sépsis e doenças cardiovasculares, sendo que os autores referem que as condições subjacentes de cada indivíduo, como idade, gravidade da doença e comorbilidades, tornaram difícil a correlação entre os respetivos tratamentos e as mortes documentadas. Nos pacientes com antecedentes de insuficiência cardíaca congestiva, a administração de bezlotoxumab resultou num número superior de casos fatais em comparação com o grupo placebo. Na globalidade, o bezlotoxumab foi considerado um fármaco com perfil de segurança adequado para a sua utilização.^[15]

Neste estudo de fase III, o bezlotoxumab reduziu o risco de recorrência da ICD em grupos predefinidos como de alto risco de recorrências e/ou fracos *outcomes* (idade ≥ 65 anos, episódio prévio de ICD, imunodeprimidos, ICD grave), exceto nos casos de infeção por estirpes mais virulentas, como BI/NAP1/027.^[91]

Com base nestes resultados o bezlotoxumab foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o uso na prevenção das recorrências da ICD em pacientes adultos (≥ 18 anos) a realizar tratamento e com elevado risco de recorrência. O fármaco é administrado em dose única (10 mg/kg) por via intravenosa e apresenta um tempo de semi-vida de 19 dias.^[92] O seu nome comercial é Zinplava e é comercializado numa dose única de uma solução que contém 1000 mg de bezlotoxumab por 40 ml (25 mg/ml), sendo que cada unidade custa cerca de 2.574,47€. ^[93] A administração é feita por via endovenosa, no entanto, este fármaco atua no lúmen intestinal, pelo que alguns estudos têm vindo a demonstrar que o transporte do bezlotoxumab é independente da via de transporte ativo mediada pelos recetores FcRn e parece ser facilitado pelo aumento da permeabilidade do epitélio intestinal e do transporte paracelular, sendo ambos induzidos pelas toxinas.^[94]

Este fármaco tem a vantagem de não provocar alterações na microbiota intestinal e evita resistência aos antibióticos, uma vez que ao diminuir a recorrência das infeções, menos ciclos de antibioterapia serão necessários.^[95]

Imunoterapia passiva: outras alternativas

No campo da imunoterapia passiva, alguns investigadores apresentam outras alternativas, que consideram ter algum potencial para utilização futura nos casos de ICDR, nomeadamente a administração de imunoglobulina intravenosa e de um concentrado de imunoglobulinas do soro obtidas a partir do colostro de bovinos

previamente imunizados contra as toxinas de CD. No entanto, são necessários estudos controlados e em maior escala que corroborem os resultados obtidos até à data e que sustentem a sua utilização. [3, 96, 97]

Imunoterapia ativa: vacinas

Atualmente existem pelo menos três vacinas diferentes de administração intramuscular, a serem estudadas para a prevenção da ICD, em ensaios clínicos de fase II e III. [69] *Sanofi Pasteur* desenvolveu uma das candidatas que contém toxoides A e B e que está a ser avaliada em ensaios clínicos de fase III. No estudo prévio de fase II, numa primeira fase, a formulação selecionada para continuar a ser testada foi a combinação da vacina toxoide em alta dose (100 µg de antígeno) e um adjuvante de hidróxido de alumínio, sendo que neste grupo, a seroconversão da toxina A e B foi de 97% e 92%, respetivamente. Numa segunda fase selecionaram o esquema de administração da vacina nos dias 0, 7 e 30. No estudo de fase III a decorrer, tem-se verificado um elevado título de anticorpos em circulação até três anos após a última dose da vacina. [98, 99]

Uma outra vacina recombinante contendo toxoide A e B, desenvolvida pela *Pfizer*, está a ser avaliada em um estudo fase II. No ensaio clínico fase I foi testada a administração de três doses, no dia 1, mês 1 e 6, com três dosagens crescentes entre os grupos. Globalmente demonstrou uma imunogenicidade satisfatória e um perfil de segurança adequado, tanto com a administração da vacina com adjuvante, como com a sem adjuvante. No entanto, a formulação sem adjuvante obteve melhores resultados contrariamente ao que seria expectável. O estudo fase I foi realizado em pequena escala pelo que não foi possível concluir qual a dose ideal a ser administrada. [100] Num dos estudos de fase II, foi avaliada a segurança, tolerabilidade e imunogenicidade desta vacina nas doses de 100 µg e 200 µg, sendo que foram administradas três doses em dois esquemas diferentes (dia 1, 8 e 30 e mês 0,1 e 6). A vacina na dose de 200 µg administrada no mês 0, 1 e 6, obteve os melhores resultados nos *endpoints* primários, pelo que foi selecionada para os futuros estudos de fase III. [101]

Uma companhia austríaca de biotecnologia (*Vanelva*) tem desenvolvido uma outra vacina recombinante (VLA84), que resulta da fusão de segmentos peptídicos do domínio de ligação dos receptores das toxinas A e B, com resultados igualmente promissores. [102] Num estudo de fase II, esta vacina foi testada numa dose de 75 µg (sem adjuvante) e 200 µg com e sem adjuvante de hidróxido de alumínio. Para o efeito

realizaram-se injeções intramusculares nos dias 0,7 e 28. Os resultados obtidos demonstram que a formulação com a maior taxa de seroconversão contra as toxinas A e B, no 56º dia de seguimento (objetivo primário), corresponde à dose de 200 µg sem adjuvante (83%), seguida da formulação com 75 µg, sem adjuvante (72%) e com 200 µg com adjuvante (60%), não havendo diferenças significativas entre ambos os grupos de idades em estudo (idade 50-64 anos e ≥65 anos). Globalmente, a vacina demonstrou ser segura e bem tolerada.^[103]

Tabela 2- Vacinas para prevenção da ICD em investigação em ensaios clínicos.

Vacina	Antígeno	Formulação e esquema	População alvo	Fase de estudo
Vacina toxoide de Sanofi Pasteur	Toxoides A e B inativados com formol	Injeção intramuscular, nos dias 0, 7 e 30, da vacina toxoide em alta dose (100 µg de antígeno) + adjuvante de hidróxido de alumínio, Comparado com placebo.	Idade > 50 anos	Ensaio clínico em fase III NCT01887912
Vacina VLA84 desenvolvida pela Vanelva	Fusão recombinante de segmentos peptídicos do domínio de ligação dos recetores das toxinas A e B	Injeções intramusculares nos dias 0,7 e 28. Doses em estudo: 75 µg, 200 µg, 200 µg (+adjuvante de hidróxido de alumínio) Comparado com placebo.	Idade 50-64 anos Idade ≥ 65 anos	Ensaio clínico em fase II NCT02316470
Vacina recombinante desenvolvida pela Pfizer	Vacina recombinante contendo toxoide A e B	Injeção intramuscular nos dias 1, 8 e 30 e mês 0,1 e 6. Doses em estudo: 100µg e 200µg Comparado com placebo.	Idade 50-85 anos	Ensaio clínico em fase II NCT02117570 e NCT02561195

Adaptado de: Kocielek LK, Gerding DN. Breakthroughs in the treatment and prevention of *Clostridium difficile* infection. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13:150-60; Remich S, Kitchin, N, Pride, M, *et al.* A phase-2, placebo-controlled, randomized, observer-blinded study to evaluate the safety, tolerability and immunogenicity of two 3-dose regimens of a *Clostridium difficile* vaccine in healthy adults 65 to 85 years of age. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018. Disponível em: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=64363; Bézay N, Hochreiter R, Jelinek T, *et al.* A Phase 2, Dose-Confirmation Immunogenicity and Safety Study of Vla84, A *Clostridium difficile* Vaccine Candidate, in Adults Aged 50 Years and Older. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2017. Disponível em: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=48261 e de Bruyn G, Saleh J, Workman D, *et al.* Defining the optimal formulation and schedule of a candidate toxoid vaccine against *Clostridium difficile* infection: A randomized Phase 2 clinical trial. *Vaccine*. 2016;34:2170–8.

Recentemente, surgiu uma nova vacina oral constituída por esporos de *Bacillus subtilis* modificados geneticamente para a apresentação do domínio C-terminal da toxina A na sua superfície. Esta vacina parece ser capaz de estimular a produção não só de IgG anti-toxinas A e B, mas também a secreção de IgA ao nível da mucosa intestinal. Estudos em animais demonstraram que além de possuir capacidade de neutralizar ambas as toxinas, também induz a secreção de IgA contra proteínas presentes nas células das formas vegetativas ou nos esporos de CD, impedindo assim a sua adesão à mucosa, oferecendo desta forma resistência à colonização.^[104, 105]

Embora a resposta imune contra as toxinas A e B possa prevenir o desenvolvimento da ICD, não previne a colonização do hospedeiro pelo CD. Por esta razão, têm sido estudadas em modelos animais potenciais vacinas, contra alguns antígenos de superfície envolvidos na adesão à mucosa intestinal.^[106]

A imunização ativa parece ser uma alternativa promissora, uma vez que oferece proteção a longo prazo contra ICD, podendo ser utilizada quer para prevenção primária quer secundária, ao contrário da imunização passiva que confere proteção a curto prazo e está apenas recomendada para prevenção de recorrências em associação com antibioterapia. No entanto, a imunização ativa requer uma resposta imune adequada, pelo que nos casos de pacientes de alto risco, como idosos e imunodeprimidos, a imunoterapia passiva ganha vantagem uma vez que não requer uma resposta imune do hospedeiro.

Esta última tem ainda a vantagem de oferecer um efeito mais rápido na neutralização das toxinas e, uma vez que as vacinas não possuem efeito imediato, os autores sugerem que ambas as imunoterapias possam ser combinadas.^[107]

Compostos de ácidos biliares

O papel demonstrado pelos ácidos biliares secundários na inibição da germinação e crescimento do CD gerou a hipótese de que estes poderiam ser úteis no tratamento adjuvante da ICDR. Foi reportado um caso de um paciente com ICDR, no qual a administração oral de ácido ursodesoxicólico foi bem-sucedida. Porém, é necessária a realização de novos estudos que possam comprovar a eficácia e viabilidade desta terapêutica.^[41, 42]

Resinas permutadoras de íons (colestiramina e tolevamer)

A colestiramina e o tolevamer são polímeros inertes de grande peso molecular, que se ligam às toxinas A e B, neutralizando-as. Não existem evidências suficientes que suportem a sua recomendação. As únicas que existem estão limitadas a um estudo de fase II, no qual o tolevamer demonstrou ser não inferior à vancomicina no tratamento da ICD, com taxas de recorrências semelhantes.^[108] Estudos mais recentes indicam que a administração do tolevamer tem eficácia inferior ao tratamento com metronidazol e vancomicina. No entanto, nos pacientes que responderam ao tolevamer, as taxas de recorrência foram baixas. Os autores consideram que, no futuro, poderá vir a ser um tratamento adjuvante após antibioterapia.^[52]

Albumina

Algumas investigações sugerem que a presença de hipoalbuminemia é um fator de risco para o desenvolvimento da ICD e ICDR. A diminuição da pressão oncótica leva a edema da mucosa com comprometimento da função da barreira da mucosa intestinal, o que favorece a ação das toxinas de CD e a progressão da doença.^[109]

Alguns estudos recentes presumiram que a albumina pudesse ter alguma ação direta sobre as toxinas de CD, nomeadamente a toxina B. Esta hipótese foi testada num estudo in vitro, no qual células humanas epiteliais de um adenocarcinoma colorretal foram expostas a toxinas A ou B, na presença e na ausência de albumina. Os resultados demonstraram que esta poderá ter um papel protetor relativamente ao efeito citotóxico das toxinas B.^[33, 110]

Conclusão

O tratamento da ICDR é um verdadeiro desafio terapêutico. Os antibióticos que atualmente utilizamos como terapêutica de primeira linha podem, ao mesmo tempo, predispor os pacientes à ICD e, possivelmente à sua recorrência, uma vez que perpetuam a disbiose da microbiota intestinal e a alteração da composição de metabolitos fecais que constituem fatores-chave na patogênese desta infecção. Por outro lado, é importante ter em atenção que alguns antibióticos são dispendiosos como opções de tratamento de primeira linha.

Nos últimos anos, têm sido desenvolvidas várias opções alternativas que parecem ser seguras, eficazes e com um grande potencial de utilização futura no tratamento e prevenção da recorrência da ICD. O transplante fecal é uma excelente alternativa à terapia antibiótica e atualmente está recomendado para os casos com múltiplas recorrências segundo as *guidelines* da ACG, ESCMID e IDSA/SHEA. No entanto, ainda existem várias limitações que não permitem ampliar a sua aplicação na prática clínica. Num futuro próximo será necessária a realização de um maior número de estudos randomizados, controlados e em maior escala, que nos forneçam dados relativos aos benefícios a longo prazo e custo-efetividade desta alternativa. É, igualmente importante, o investimento em estudos que procurem a estandardização dos procedimentos envolvidos e o desenvolvimento de formulações mais padronizadas, controladas, reprodutíveis e de fácil administração, de modo a que seja possível o estabelecimento de orientações internacionais mais uniformes.

Alguns passos já foram dados com o desenvolvimento de preparações para a transplantação fecal mais padronizadas, seguras e prontas a utilizar e com a criação de fórmulas inovadoras constituídas por uma mistura específica de bactérias ou por uma espécie única. Nesta área, é de particular relevância a identificação das várias estirpes bacterianas da microbiota fecal e dos metabolitos fecais resultantes das suas atividades metabólicas que apresentem uma função inibidora de CD e que possam ser incorporadas nas futuras preparações.

O anticorpo monoclonal antitoxina-B (bezlotoxumab) é uma alternativa promissora aprovado pela FDA para o uso na prevenção das recorrências da ICD em pacientes a realizar antibioterapia e com elevado risco de recorrência. Esta alternativa tem a vantagem de não provocar alterações na microbiota intestinal e, ainda evita a resistência

aos antibióticos. Será pertinente questionar se o bezlotoxumab será incluído nas recomendações para ICDR, nas próximas *guidelines* a serem publicadas em breve, sendo esta a primeira opção terapêutica aprovada pela FDA para a prevenção da ICD. É, sem dúvida, uma terapêutica que tem custos elevados, mas que são comparáveis ao tratamento *standard* com fidaxomicina, recomendado como primeira linha quer no primeiro episódio recorrente quer nos casos com múltiplas recorrências, além de que é um fármaco com a vantagem de ser administrado em dose única.

Outra mudança expectável, nas próximas *guidelines*, é a administração da fidaxomicina em pulsos, na tentativa de uma maior diminuição do número de casos recorrentes. Embora, ainda não tenha sido comparada a administração de fidaxomicina em pulsos com o esquema *standard* de fidaxomicina, estudos comparativos com o esquema *standard* de vancomicina revelam taxas de recorrência inferiores nos pacientes tratados com esquema de fidaxomicina em pulsos, além de ter sido obtida a taxa de recorrência mais baixa, reportada até à data, em estudos relativos ao tratamento com antibióticos da ICD.

Não poderia deixar de evidenciar a importância crescente dos regimes de vancomicina em *tapering* e/ou em pulsos que também têm sido associados a taxas de recorrência inferiores comparativamente ao esquema de vancomicina *standard*, pelo que as *guidelines* mais atuais da IDSA/SHEA recomendam a sua administração no primeiro episódio recorrente e não apenas nos casos de múltiplas recorrências, como recomendado até então.

Na área da imunoterapia, destaca-se ainda o desenvolvimento de vacinas que conferem proteção a longo prazo e que têm um grande potencial para uma futura aplicação na prática clínica na prevenção primária e secundária da ICD.

Outra área em desenvolvimento, é a investigação de fatores de colonização e potenciais anticorpos contra estes, assim como o mecanismo de persistência dos esporos e o seu papel na doença recorrente, uma vez que se constatou que a destruição das toxinas de CD pode prevenir o desenvolvimento da ICD mas não previne a colonização do hospedeiro.

Algumas das novas estratégias para a ICDR abordadas, como a fidaxomicina e o bezlotoxumab, como já foi referido anteriormente, têm um custo acrescido e só são custo-efetivas para um determinado grupo de pacientes. Por esta razão é cada vez mais

importante uma melhor identificação dos marcadores clínicos que permitam a criação de modelos padrão e avaliação do risco de desenvolvimento de episódios de ICD graves ou recorrentes e que possam prever o benefício de regimes terapêuticos específicos, de modo a diminuir as complicações, mortalidade e recorrências.

Agradecimentos

À minha orientadora, a Dra. Carla Mimoso Santos, pela competência e rigor com que orientou a realização do meu trabalho final de Mestrado Integrado em Medicina. Agradeço-lhe por ter aceite este desafio com tanta dedicação e por todo o apoio, conselhos e disponibilidade. O seu entusiasmo, a sua perseverança e capacidade motivadora, tornaram todo este processo mais leve.

À Clínica Universitária de Doenças Infecciosas e Parasitárias, o meu sincero agradecimento pela oportunidade da realização deste trabalho e por todo o auxílio prestado.

Bibliografia

1. Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, *et al.* Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *American Journal of Gastroenterology*. 2013;108:478–98.
2. Smits WK, Lyras D, Lacy DB, Wilcox MH, Kuijper EJ. *Clostridium difficile* infection. *Nature Reviews Disease Primers*. 2016; 2:16020.
3. Gálvez JAV, Kelly CP. Bezlotoxumab: anti-toxin B monoclonal antibody to prevent recurrence of *Clostridium difficile* infection. *Expert Review of Gastroenterology and Hepatology*. 2017;11:611–22.
4. Leffler DA, Lamont JT. *Clostridium difficile* infection. *The New England Journal of Medicine*. 2015;372:539–48.
5. Heinlen L, Ballard JD. *Clostridium difficile* infection. *The American Journal of the Medical Sciences*. 2010;340:247–52.
6. Bauer MP, Kuijper EJ, van Dissel JT. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: Treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009;15:1067–79.
7. Gould CV, McDonald LC. Bench-to-bedside review: *Clostridium difficile* colitis. *Critical Care*. 2008;12:203.
8. Le Monnier A, Zahar JR, Barbut F. Update on *Clostridium difficile* infections. *Medecine et Maladies Infectieuses*. 2014;44:354–65.
9. Theriot CM, Koenigsnecht MJ, Carlson Jr. PE, *et al.* Antibiotic-induced shifts in the mouse gut microbiome and metabolome increase susceptibility to *Clostridium difficile* infection. *Nature Communications*. 2014;5:3114.
10. Shields K, Araujo-Castillo RV, Theethira TG, Alonso CD, Kelly CP. Recurrent *Clostridium difficile* infection: From colonization to cure. *Anaerobe*. 2015;34:59–73.
11. Bartlett JG, Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2008;46:S12–8.
12. Vieira AM, Machado MV, Lito L, *et al.* Diarreia Associada a *Clostridium Difficile* num Hospital Central. *Jornal Português de Gastreenterologia*. 2010;17:10–7.

13. Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, *et al.* European society of clinical microbiology and infectious diseases: Update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20:126.
14. Magill SS, Edwards JR, Bamberg W, *et al.* Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections. *New England Journal of Medicine*. 2014;370:1198–208.
15. Wilcox MH, Gerding DN, Poxton IR, *et al.* Bezlotoxumab for Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *New England Journal of Medicine*. 2017;376:305–17.
16. van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, *et al.* Duodenal Infusion of Donor Feces for Recurrent *Clostridium difficile*. *New England Journal of Medicine*. 2013;368:407-15.
17. Kwon JH, Olsen MA, Dubberke ER. The Morbidity, Mortality, and Costs Associated with *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29:123–34.
18. Barbut F, Decré D, Lalande V, *et al.* Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP- ribosyltransferase) -producing strains. *Journal of Medical Microbiology*. 2005;54:181–5.
19. Mantney CF, Eckmann L, Fuhrmann V. Expert Review of Clinical Pharmacology Therapy for *Clostridium difficile* infection – any news beyond Metronidazole and Vancomycin ?. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2017;0:1–2.
20. Cole SA, Stahl TJ. Persistent and Recurrent *Clostridium difficile* Colitis. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*. 2015;28:65–9.
21. Cornely OA, Nathwani D, Ivanescu C, *et al.* Clinical efficacy of fidaxomicin compared with vancomycin and metronidazole in *Clostridium difficile* infections: A meta-analysis and indirect treatment comparison. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69:2892–900.
22. Slimings C, Riley TV. Antibiotics and hospital-acquired *Clostridium difficile* infection: update of systematic review and meta-analysis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2014;69:881–91.
23. Kelly CR, Ihunnah C, Fischer M, *et al.* Fecal Microbiota Transplant for Treatment of *Clostridium difficile* Infection in Immunocompromised Patients. *American Journal of Gastroenterology*. 2014;109:1065–71.

24. Schippa S, Conte MP. Dysbiotic events in gut microbiota: Impact on human health. *Nutrients*. 2014;6:5786–805.
25. Theriot CM, Young VB. Interactions between the gastrointestinal microbiome and *Clostridium difficile*. *Annual Review of Microbiology*. 2015;69:445–61.
26. Lewis BB, Pamer EG. Microbiota-Based Therapies for *Clostridium difficile* and Antibiotic-Resistant Enteric Infections. *Annual Review of Microbiology*. 2017;71:157–78.
27. Ramakrishna BS. Role of the gut microbiota in human nutrition and metabolism. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2013;28:9–17.
28. Brahe LK, Astrup A, Larsen LH. Is butyrate the link between diet, intestinal microbiota and obesity-related metabolic diseases? *Obesity Reviews*. 2013;14:950-9.
29. Morrison DJ, Preston T. Formation of short chain fatty acids by the gut microbiota and their impact on human metabolism. *Gut Microbes*. 2016;7:189–200.
30. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochemical Journal*. 2017;474:1823–36.
31. May T, Mackie RI, Fahey GC, Cremin JC, Garleb KA. Effect of fiber source on short-chain fatty acid production and on the growth and toxin production by *clostridium difficile*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 1994;29:916–22.
32. Rao K, Young VB. Fecal Microbiota Transplantation for the Management of *Clostridium difficile* Infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29:109–22.
33. Di Bella S, Ascenzi P, Siarakas S, Petrosillo N, di Masi A. *Clostridium difficile* toxins A and B: Insights into pathogenic properties and extraintestinal effects. *Toxins*. 2016;8:1–25.
34. Riegler M, Sedivy R, Pothoulakis C, et al. *Clostridium difficile* toxin B is more potent than toxin A in damaging human colonic epithelium in vitro. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;95:2004–11.
35. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* Toxins: Mechanism of Action and Role in Disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2005;18:247–63.
36. Rodríguez-Pardo D, Mirelis B, Navarro F. Infecciones producidas por *Clostridium difficile*. Observaciones. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2013;31:254–63.

37. Cloud J, Kelly CP. Update on *Clostridium difficile* associated disease. *Current Opinion in Gastroenterology*. 2007;23:4–9.
38. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, *et al.* Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: Epidemiology and clinical implications. *BMC Infectious Diseases*. 2015;15:1–11.
39. Antonara S, Leber AL. Diagnosis of *Clostridium difficile* Infections in Children. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016;54:1425–33.
40. Buffie CG, Pamer EG. Microbiota-mediated colonization resistance against intestinal pathogens. *Nature reviews Immunology*. 2013;13:790–801.
41. Weingarden AR, Chen C, Zhang N, *et al.* Ursodeoxycholic acid inhibits *Clostridium difficile* spore germination and vegetative growth, and prevents recurrence of ileal pouchitis associated with the infection. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2016;50:624–30.
42. Sorg JA, Sonenshein AL. Inhibiting the initiation of *Clostridium difficile* spore germination using analogs of chenodeoxycholic acid, a bile acid. *Journal of Bacteriology*. 2010;192:4983–90.
43. Bevins CL, Salzman NH. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*. 2011;9:356–68.
44. Kyne L, Warny M, Qamar A, Kelly CP. Asymptomatic Carriage of *Clostridium difficile* and Serum Levels of IgG Antibody against Toxin A. *New England Journal of Medicine*. 2000;342:390–7.
45. Bauer MP, Nibbering PH, Poxton IR, Kuijper EJ, van Dissel JT. Humoral immune response as predictor of recurrence in *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2014;20:1323–28.
46. Humphreys DP, Wilcox MH. Antibodies for Treatment of *Clostridium difficile* Infection. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2014;21:913–23.
47. Chang JY, Antonopoulos DA, Kalra A, *et al.* Decreased Diversity of the Fecal Microbiome in Recurrent *Clostridium difficile* –Associated Diarrhea. *The Journal of Infectious Diseases*. 2008;197:435–8.
48. Weingarden AR, Chen C, Bobr A, *et al.* Microbiota transplantation restores normal fecal bile acid composition in recurrent *Clostridium difficile* infection. *Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2014;306:G310–9.
49. Seekatz AM, Aas J, Gessert CE, *et al.* Recovery of the gut microbiome following fecal microbiota transplantation. *mBio*. 2014;5:1–9.

50. Kelly CR, Khoruts A, Staley C, *et al.* Effect of fecal microbiota transplantation on recurrence in multiply recurrent *Clostridium difficile* infection a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*. 2016;165:609–16.
51. Ferreyra JA, Higginbottom SK, Lynch JB, *et al.* Microbiota-liberated host sugars facilitate post-antibiotic expansion of enteric pathogens. *Nature*. 2013;502:96–9.
52. Johnson S, Louie TJ, Gerding DN, *et al.* Vancomycin, metronidazole, or tolevamer for *Clostridium difficile* infection: Results from two multinational, randomized, controlled trials. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;59:345–54.
53. Sirbu BD, Soriano MM, Manzo C, *et al.* Vancomycin taper and pulsed regimen with careful follow up for patients with recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clinical Infectious Diseases*, 2017;65(8):1396-9.
54. McFarland LV, Elmer GW, Surawicz CM. Breaking the cycle: Treatment strategies for 163 cases of recurrent *Clostridium difficile* disease. *American Journal of Gastroenterology*. 2002;97:1769–75.
55. Ponte A, Pinho R, Mota M, *et al.* Initial experience with fecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection – transplant protocol and preliminary results. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. 2015;107:402-7.
56. Louie TJ, Cannon K, Byrne B, *et al.* Fidaxomicin preserves the intestinal microbiome during and after treatment of *Clostridium difficile* infection and reduces both toxin reexpression and recurrence of CDI. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;55:132-42.
57. Crook DW, Walker SA, Kean Y, *et al.* Fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection: Meta-analysis of pivotal randomized controlled trials. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;55:93-103.
58. Cornely OA, Miller MA, Louie TJ, Crook DW, Gorbach SL. Treatment of first recurrence of *Clostridium difficile* infection: Fidaxomicin versus vancomycin. *Clinical Infectious Diseases*. 2012;55:S154–61.
59. Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, *et al.* Fidaxomicin versus Vancomycin for *Clostridium difficile* Infection. *New England Journal of Medicine*. 2011;364:422–31.

60. Guery B, Menichetti F, Anttila VJ, *et al.* Extended-pulsed fidaxomicin versus vancomycin for *Clostridium difficile* infection in patients 60 years and older (EXTEND): A randomised, controlled, open-label, phase 3b/4 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2017;18:296-307.
61. Goldenberg SD, Brown S, Edwards L, *et al.* The impact of the introduction of fidaxomicin on the management of *Clostridium difficile* infection in seven NHS secondary care hospitals in England: a series of local service evaluations. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2016;35:251–9.
62. McDonald LC, Gerding DN, Johnson S, *et al.* Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults and Children: 2017 Update by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA). *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2018;66:987-94.
63. Garey KW, Ghantaji SS, Shah DN, *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study to assess the ability of rifaximin to prevent recurrent diarrhoea in patients with *Clostridium difficile* infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2011;66:2850–5.
64. Hota SS, Sales S, Tomlinson G, *et al.* Oral Vancomycin Followed by Fecal Transplantation Versus Tapering Oral Vancomycin Treatment for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: An Open-label, Randomized Controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases*. 2017;64:265-71.
65. Goyal H, Perisetti A, Rehman MR, Singla U. New and emerging therapies in treatment of *Clostridium difficile* infection. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*. 2018;30:589-97.
66. Weingarden A, González A, Vázquez-Baeza Y, *et al.* Dynamic changes in short- and long-term bacterial composition following fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Microbiome*. 2015;3(1):10.
67. Brandt LJ, Aroniadis OC, Mellow M, *et al.* Long-term follow-up of colonoscopic fecal microbiota transplant for recurrent *Clostridium difficile* infection. *American Journal of Gastroenterology*. 2012;107:1079–87.

68. Cammarota G, Masucci L, Ianiro G, *et al.* Randomised clinical trial: Faecal microbiota transplantation by colonoscopy vs. vancomycin for the treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2015;41:835–43.
69. Kocielek LK, Gerding DN. Breakthroughs in the treatment and prevention of *Clostridium difficile* infection. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2016;13:150-60.
70. O'Horo JC, Jindai K, Kunzer B, *et al.* Treatment of recurrent *Clostridium difficile* infection: A systematic review. *Infection*. 2014;42:43-59.
71. Postigo R, Kim JH. Colonoscopic versus nasogastric fecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: A review and pooled analysis. *Infection*, 2012;40:643–48.
72. Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2011;53:994–1002.
73. Carmo J, Marques S, Chapim I, *et al.* Leaping Forward in the Treatment of *Clostridium Difficile* Infection: Update in 2015. *Portuguese Journal of Gastroenterology*. 2015;22:259–67.
74. Li Y-T, Cai H-F, Wang Z-H, Xu J, Fang J-Y. Systematic review with meta-analysis: long-term outcomes of faecal microbiota transplantation for *Clostridium difficile* infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2016;43:445–57.
75. Kao D, Roach B, Silva M, *et al.* Effect of Oral Capsule– vs Colonoscopy-Delivered Fecal Microbiota Transplantation on Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Journal of the American Medical Association*. 2017;318:1985-93.
76. Youngster I, Sauk J, Pindar C, *et al.* Fecal microbiota transplant for relapsing *Clostridium difficile* infection using a frozen inoculum from unrelated donors: A randomized, open-label, controlled pilot study. *Clinical Infectious Diseases*. 2014;58:1515–22.
77. Youngster I, Russell GH, Pindar C, Ziv-Baran T, Sauk J, Hohmann EL. Oral, Capsulized, Frozen Fecal Microbiota Transplantation for Relapsing *Clostridium difficile* Infection. *Journal of the American Medical Association*. 2014;312:1772–78.

78. Youngster I, Mahabamunuge J, Systrom HK, *et al.* Oral, frozen fecal microbiota transplant capsules for recurrent *Clostridium difficile* infection. *BMC Medicine*. 2016;14:134.
79. Orenstein R, Dubberke E, Hardi R, *et al.* Safety and Durability of RBX2660 (Microbiota Suspension) for Recurrent *Clostridium difficile* Infection: Results of the PUNCH CD Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2016;62:596–602.
80. Dubberke ER, Lee CH, Orenstein R, *et al.* Results from a Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial of a RBX2660—a Microbiota-based Drug for the Prevention of Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Journal of Infectious Diseases*. 2018. ciy259. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29617739>.
81. Petrof EO, Gloor GB, Vanner SJ, *et al.* Stool substitute transplant therapy for the eradication of *Clostridium difficile* infection: “RePOOPulating” the gut. *Microbiome*. 2013;1:3.
82. Khanna S, Pardi DS, Kelly CR, *et al.* A Novel Microbiome Therapeutic Increases Gut Microbial Diversity and Prevents Recurrent *Clostridium difficile* Infection. *Journal of Infectious Diseases*. 2016;214:173-81.
83. Gerding DN, Meyer T, Lee C, *et al.* Administration of spores of nontoxigenic *Clostridium difficile* strain M3 for prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection: A Randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association*. 2015;313:1719–27.
84. Hill C, Guarner F, Reid G, *et al.* Expert consensus document: The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*. 2014;11:506–14.
85. Castagliuolo I, Riegler MF, Valenick L, Lamont T, Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* Protease Inhibits the Effects of *Clostridium difficile* Toxins A and B in Human Colonic Mucosa *Saccharomyces boulardii* Protease Inhibits the Effects of *Clostridium difficile* Toxins A and B in Human Colonic Mucosa. *infection and Immunity*, 1999;67:302–7.
86. Johnson S, Maziade PJ, McFarland L V, *et al.* Is primary prevention of *Clostridium difficile* infection possible with specific probiotics? *International Journal of Infectious Diseases*. 2012;16:e776–82.

87. McFarland LV. Systematic review and meta-analysis of *saccharomyces boulardii* in adult patients. *World Journal of Gastroenterology*. 2010;16:2202–22.
88. Doron S, Snyderman DR. Risk and safety of probiotics. *Clinical Infectious Diseases*. 2015;60:S129–34.
89. Leav BA, Blair B, Leney M, *et al*. Serum anti-toxin B antibody correlates with protection from recurrent *Clostridium difficile* infection (CDI). *Vaccine*. 2010;28:965–9.
90. Lowy I, Molrine DC, Leav BA, *et al*. Treatment with Monoclonal Antibodies against *Clostridium difficile* Toxins. *New England Journal of Medicine*. 2010;362:197-205.
91. Gerding DN, Kelly CP, Rahav G, *et al*. Bezlotoxumab for prevention of recurrent *Clostridium difficile* infection in patients at increased risk for recurrence. *Clinical Infectious Diseases*. 2018. Disponible em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29538686>.
92. Sharpe M, Corp D. FDA Briefing Document Bezlotoxumab Injection Meeting of the Antimicrobial Drugs Advisory Committee (AMDAC). 2016. Disponible em: <https://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/Anti-InfectiveDrugsAdvisoryCommittee/UCM505290.pdf>
93. Couture-Cossette A, Carignan A, Ilangumaran S, Valiquette L. Bezlotoxumab for the prevention of *Clostridium difficile* recurrence. *Expert Opinion on Biological*. 2017;17:1439-45.
94. Zhang Z, Chen X, Hernandez LD, *et al*. Toxin-mediated paracellular transport of antitoxin antibodies facilitates protection against *Clostridium difficile* infection. *Infection and Immunity*. 2015;83:405–16.
95. Džunková M, D’Auria G, Xu H, *et al*. The Monoclonal Antitoxin Antibodies (Actoxumab–Bezlotoxumab) Treatment Facilitates Normalization of the Gut Microbiota of Mice with *Clostridium difficile* Infection. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016;6:1–9.
96. Mattila E, Anttila VJ, Broas M, *et al*. A randomized, double-blind study comparing *Clostridium difficile* immune whey and metronidazole for recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhoea: Efficacy and safety data of a prematurely interrupted trial. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 2008;40:702–8.

97. Abougergi, M.S. and Kwon, J.H. Intravenous immunoglobulin for the treatment of *clostridium difficile* infection: A review. *Digestive Diseases and Sciences*. 2011;56:19–26.
98. de Bruyn G, Saleh J, Workman D, *et al.* Defining the optimal formulation and schedule of a candidate toxoid vaccine against *Clostridium difficile* infection: A randomized Phase 2 clinical trial. *Vaccine*. 2016;34:2170–8.
99. de Bruyn G, Glover R, Poling TL, *et al.* Three year follow up for safety and immunogenicity of a candidate *Clostridium difficile* toxoid vaccine. Presented at: IDWeek 2016. New Orleans, Louisiana; October 26-30, 2016. Poster 746. Disponível em: <https://idsa.confex.com/idsa/2016/webprogram/Paper58900.html>
100. Sheldon E, Kitchin N, Peng Y, *et al.* A phase 1, placebo-controlled, randomized study of the safety, tolerability, and immunogenicity of a *Clostridium difficile* vaccine administered with or without aluminum hydroxide in healthy adults. *Vaccine*. 2016;34:2082–91.
101. Remich S, Kitchin, N, Pride, M, *et al.* A phase-2, placebo-controlled, randomized, observer-blinded study to evaluate the safety, tolerability and immunogenicity of two 3-dose regimens of a *Clostridium difficile* vaccine in healthy adults 65 to 85 years of age. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2018. Disponível em: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=64363
102. Bézay N, Ayad A, Dubischar K, *et al.* Safety, immunogenicity and dose response of VLA84, a new vaccine candidate against *Clostridium difficile*, in healthy volunteers. *Vaccine*. 2016 34: 2585–92.
103. Bézay N, Hochreiter R, Jelinek T, *et al.* A Phase 2, Dose-Confirmation Immunogenicity and Safety Study of Vla84, A *Clostridium difficile* Vaccine Candidate, in Adults Aged 50 Years and Older. *European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2017. Disponível em: https://www.escmid.org/escmid_publications/escmid_elibrary/material/?mid=48261.
104. Permpoonpattana P, Hong HA, Phetcharaburanin J, *et al.* Immunization with Bacillus spores expressing toxin a peptide repeats protects against infection with *Clostridium difficile* strains producing toxins A and B. *Infection and Immunity*. 2011;79:2295–302.

105. Hong HA, Hitri K, Hosseini S, *et al.* Mucosal antibodies to the C terminus of toxin A prevent colonization of *Clostridium difficile*. *Infection and Immunity*. 2017;85:1–13.
106. Ghose C, Kelly CP. The prospect for vaccines to prevent *clostridium difficile* infection. *Infectious Disease Clinics of North America*. 2015;29:145–62.
107. Péchiné S, Janoir C, Collignon A. Emerging monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* infection. *Expert Opinion on Biological Therapy*. 2017;17:415–27.
108. Louie TJ, Peppe J, Watt CK, *et al.* Tolevamer, a Novel Nonantibiotic Polymer, Compared with Vancomycin in the Treatment of Mild to Moderately Severe *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea. *Clinical Infectious Diseases*. 2006;43:411–20.
109. Kumarappa VS, Patel H, Shah A, Baddoura W, DeBari VA. Temporal changes in serum albumin and total protein in patients with hospital-acquired *Clostridium difficile* infection. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 2014;44:32–7.
110. Soe MM, Gould C V, Pollock D, Edwards J. The Protective Role of Albumin in *Clostridium difficile* Infection: A Step Toward Solving the Puzzle. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2015;36:1478–9.

Anexos

Anexo A

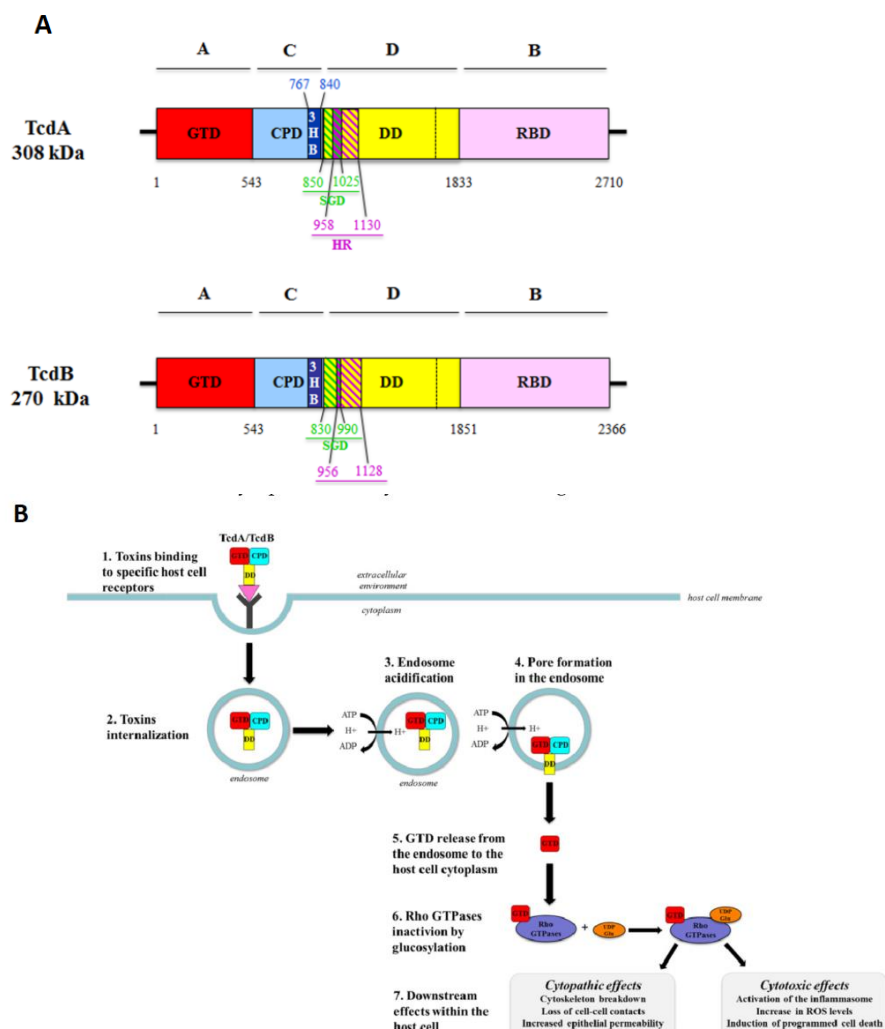


Figura 1. Estrutura e mecanismos de ação das toxinas A e B. (A) Representação esquemática da estrutura da toxina A e B segundo modelo ABCD. (A) domínio catalítico N-terminal glicosiltransferase (C) domínio da cisteína protease; (D) domínio hidrofóbico; (B) domínio C-terminal de ligação aos recetores. (B) Mecanismos de ação das toxinas A e B. Ligação das toxinas A e B aos recetores da membrana celular através do domínio B com posterior internalização e formação de endossomas. Após mudança do pH endossomal, ocorre mudança conformacional das toxinas, o domínio D forma um poro na membrana endossomal permitindo a translocação do domínio A para o citosol. Este sofre clivagem autocatalítica através do domínio C, sendo o domínio A libertado no citosol onde ocorre a glicosilação de GTPases, com consequente degradação do citoesqueleto de actina, indução de processos inflamatórios, alteração da permeabilidade celular, destruição das zonas de junção intercelulares e morte celular.

Adaptado de: Di Bella S, Ascenzi P, Siarakas S, Petrosillo N, di Masi A. *Clostridium difficile* toxins A and B: Insights into pathogenic properties and extraintestinal effects. *Toxins*. 2016;8:1–25.

Anexo B

Tabela 1- Critérios clínicos e laboratoriais da gravidade da ICD.

Gravidade	Critérios clínicos e laboratoriais
Ligeira a moderada	Diarreia associada a outros sinais e sintomas (sem critérios de ICD grave e complicada).
Grave	Albumina sérica <3g/dL + Contagem de leucócitos ≥ 15.000 células/mm ³ ou Rigidez abdominal (sem critérios de ICD grave e complicada).
Grave e complicada	ICD com um dos seguintes critérios: -Necessidade de admissão em Unidade de Cuidados Intensivos; -Hipotensão com ou sem necessidade de recurso a vasopressores; -Febre $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$; -Ileus ou distensão abdominal significativa; -Alteração do estado de consciência; -Contagem de leucócitos ≥ 35.000 células/mm ³ ou <2.000 células/mm ³ ; -Lactatos séricos $> 2,2\text{mmol/L}$; -Falência de órgão.

Adaptado de: Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, *et al.* Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *American Journal of Gastroenterology*. 2013;108:478–98.

Anexo C

Tabela 2- Marcadores prognósticos que podem ser utilizados para determinar se existe um risco aumentado de vir a desenvolver ICD grave e/ou recorrente.

Marcadores prognósticos que podem ser utilizados para determinar se existe um risco aumentado de vir a desenvolver

ICD grave:

- Idade ≥ 65 anos
- Contagem de leucócitos ≥ 15.000 células/mm³;
- Creatinina sérica $\geq 1,5$ vezes do nível basal ou ≥ 133 μ M;
- Albumina sérica < 3 g/dL;
- Comorbilidades (imunodeficiência e/ou doenças graves concomitantes).

ICD recorrente:

- Idade > 65 anos;
 - Manutenção da antibioterapia após o diagnóstico de ICD e/ou após o tratamento;
 - Comorbilidades (doença grave concomitante) e /ou Insuficiência Renal;
 - História prévia de ICD (> 1 episódio recorrente)
 - Uso de inibidores da bomba de prótons;
 - Episódio de ICD inicial grave.
-

Adaptado de: Debast SB, Bauer MP, Kuijper EJ, Allerberger F, Bouza E, Coia JE, *et al.* European society of clinical microbiology and infectious diseases: Update of the treatment guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*, 2014; 20:1–26.

Anexo D

Tabela 3- Custo aproximado dos antibióticos utilizados na terapêutica da ICD.

Antibióticos	Custos por dose (valor aproximado)	Custos por esquema de 10 dias
Metronidazol 500 mg cápsulas	0,62 €	18,67 €
Vancomicina 125 mg cápsulas	14,43 €	577,06 €
Vancomicina 125 mg IV	2,12 - 8,49 €	84,86- 339,45 €
Fidaxomicina 200 mg cápsulas	118,81 €	2.376,13 €

Adaptado de: Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, *et al.* Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *American Journal of Gastroenterology*. 2013;108:478–98

Anexo E

Tabela 4- Antibióticos em investigação para o tratamento da ICD, ainda não aprovados.

Antibióticos	Indicação	Vantagens
Cadazolida	ICD Moderada a grave	- Absorção intestinal reduzida; -Taxas de cura comparáveis com a administração de vancomicina; -Taxas de recorrência e resistência inferiores comparativamente à utilização de vancomicina.
Surotomicina	ICD Moderada a grave	-Absorção intestinal reduzida; -Taxas de cura comparáveis com a terapêutica com vancomicina; -Maior eficácia no tratamento de estirpes hipervirulentas com taxas de recorrências inferiores.
Tigeciclina	ICD grave e recorrente	-Inibe a produção de toxinas e esporos das estirpes hipervirulentas.
Ridinilazole	ICD ligeira a moderada e Recorrente	-Sem absorção intestinal e com impacto reduzido na microbiota intestinal; -Atividade bactericida contra CD; -Eficácia superior relativamente à utilização de vancomicina e metronidazol.

Adaptado de: Goyal H, Perisetti A, Rehman MR, Singla U. New and emerging therapies in treatment of *Clostridium difficile* infection. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2018;30:589-97.